

Aus dem Institut für Pathologie: Molekularpathologie
Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
Direktor: Prof. Dr. med. G. Sauter

Prävalenz und klinische Signifikanz von NrCAM
Expression in humanen Tumortypen

Dissertation

Zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

Ana-Maria Dancau

Hamburg 2012

Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Universität Hamburg am: 13.06.2012

Veröffentlicht mit Genehmigung der Medizinischen
Fakultät der Universität Hamburg

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. med. G. Sauter

Prüfungsausschuss: 2. Gutachter/in: Prof. Dr. med. T. Strate

Prüfungsausschuss: 3. Gutachter/in: PD Dr. R. Simon

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abkürzungsverzeichnis	III
Abbildungsverzeichnis	V
Tabellenverzeichnis	V
1 Einleitung	1
1.1 Hypothese und Fragestellung.....	1
1.2 NRCAM und andere CAMs	1
1.3 Das Pankreaskarzinom	10
1.3.1 Genetik des Pankreaskarzinoms	12
1.3.2 Diagnostik und Therapie des Pankreaskarzinoms.....	17
1.4 Das Ösophaguskarzinom	23
1.4.1 Genetik des Ösophaguskarzinoms	26
1.3.2 Diagnostik und Therapie des Ösophaguskarzinoms	29
2 Material und Methoden	36
2.1 Untersuchungsmaterial.....	36
2.1.1 Multitumor TMA (V4_Hamburg).....	36
2.1.2 Pankreas Prognose TMA.....	40
2.1.3 Esophagus Prognose TMA	43
2.2 Immunhistochemie	45
2.2.1 Protokoll	45
2.2.2 Auswertung	46
2.3 Statistik	48
3 Ergebnisse	49
3.1 NRCAM Expression in humanen Tumoren	49
3.2 NrCAM Expression im Pankreaskarzinom.....	52
3.2.1 Assoziation zum Tumorphänotyp.....	53
3.2.2 Assoziation zur Patientenprognose	55
3.3 NrCAM Expression im Ösophaguskarzinom	56
3.3.1 Assoziation zum Tumorphänotyp.....	58
3.3.2 Assoziation zur Patientenprognose	60
4 Diskussion	62
4.1 Auswahl von NrCAM zur Expressionsanalyse	62

INHALTSVERZEICHNIS

4.2	NrCAM Expression in humanen Tumoren	63
4.3	NRCAM Expression im Pankreas- und Ösophaguskarzinom	69
5	Zusammenfassung	73
6	Literaturverzeichnis	74
7	Danksagung	90
8	Lebenslauf	91
9	Erklärung	93

Abkürzungsverzeichnis

aCGH	Array-Komparative Genomische Hybridisierung
ADC	Adenokarzinom
AKT	Protein Kinase B
ARMS	Alveolar Rhabdomyosarcoma
BGP	Biliary Glycoprotein
BRCA	Breast Cancer susceptibility protein
Ca ²	Kalzium
CA 19-9	Carbohydrate Antigen 19-9
CAM	Cell adhesion molecule (Zelladhäsions Molekül)
C-CAM	Cell-CAM
CEA	Carcinoembryonic antigen
Cdkna2	Cyclin dependent kinase 2a/p16
chCE7	L1-Protein gerichtete Antikörper
cDNA	Komplementäre Desoxyribonukleinsäure
CEP	Centromeric probe
CHL1	Cell adhesion molecule with homology to L1CAM (close homolog of L1)
C-MYC (v-MYC)	Myelocytomatosis viral oncogene homolog
CT	Computertomographie
DEC1	Deleted in Esophageal Cancer 1 Gene
dH ₂ O	Destilliertes Wasser
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DSMZ	Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH
EGFR	Epidermal growth factor receptor gene
ERBB3	Rezeptor Tyrosin-Protein Kinase
ERCP	Endoskopische retrograde Cholngiopankreatikographie
ERK	Extrazellulär Signal-regulierte Kinase
ERMS	Embryonal Rhabdomyosarcoma
F11/F3 (CNTN1)	Contactin 1
FAMMM-Syndrom	Familial atypical Mole-Malignant Melanoma
FHIT	Fragile Histidine Triad-Gen
FISH	Fluoreszens in-situ Hybridisierung
FPC	Familial Pancreatic Cancer Kindred
5-FU	5-Fluoruracil
GPI	Glycophosphaidylinositol
HCL	Chlorwasserstoff (Salzsäure)
HER2	Human Epidermal Growth Factor Receptor 2
hNrCAM	Antisense human neuroglia related cell adhesion molecule
HNPCC	Hereditary Nonpolyposis Colon Cancer
HPV	Humanes Papilloma Virus
Ig	Immunglobulin
IHC	Immunhistochemie

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

INK4A	Tumorsuppressorgen p16
IPMN	Intraduktale papilläre mucinöse Neoplasie
IQ	Intelligenzquotient
kDa	kilo Dalton
K-RAS (v-Ki-ras)	Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog
LAMB1	Laminin subunit beta-1 Gen
LOH	Loss of Heterozygosity
LRRN3	Leucine-rich Repeat Neuronal Protein 3
L1	Calcium independent cell adhesion molecule L1
NgCAM	Neuron-glia cell adhesion molecule
NIH3T3	Mouse embryonic fibroblast cell line
NrCAM	Neuronal cell adhesion molecule gene
NSCLC	Non Small Cell Lung Cancer, Nichtkleinzelliges Bronchiakarzinom
MCN	Mucinöse cystische Neoplasie
mRNA	Messenger RNA
MRCP	Magnetresonanztomographische Cholangiopankreaticographie
MRT	Magnetresonanztomographie
MSD1	Muscle Specific Sequence Domain
MTS-1	Tumorsuppressorgen für das Gen p16
PanIN	Pankreas intraepitheliale Neoplasie
PCA	Platteneithelkarzinom
PSA	Polysialic Acid
POL I	Polymerase 1
PTCD	Percutane transhepatische Cholanggiographie
RB1 Gen	Retinoblastom 1 Gen
RMS	Rhabdomyosarkom
RNA	Ribonukleinsäure
SCLC	Small Cell Lung Cancer, kleinzelliges Bronchiakarzinom
SCT	Standard Control Tissue, Kontrollgewebe
SDS	Natriumdodecylsulfat
siRNA	Small interfering RNA
SKI-Protein	Protoonkogen, nach dem Sloan-Kettering Institut
SNP	Single-Nucleotide Polymorphism
SPC	Sporadic Pancreatic Cancer
SQCC	Squamous cell carcinoma, Platteneithelkarzinom
SRC	Protoonkogen Tyrosin-Protein Kinase
SRK	Signal Regulated Kinase
STK11	Serin/Threonin Kinase 11
TGF	Transforming Growth Factor
TMA	Tissue Micro Array
TOC	Tylosis Oesophageal Cancer
T Gen	Tumor (suppressor Protein) 53 Gen
TWEEN	Polyoxyethylen(20)-sorbitan-monolaurat
UICC	International Union Against Cancer
WHO	World Health Organisation
ZNS	Zentrales Nervensystem

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Entwicklung des Pankreas-Karzinoms	13
Abbildung 2: Übersicht Multitumor-Array.....	40
Abbildung 3: Auswirkungen des Tumorstadiums auf die Prognose des Pankreaskarzinoms....	42
Abbildung 4: TMA Pankreaskarzinom	42
Abbildung 5: Auswirkungen des Tumorstadiums auf die Prognose des Ösophaguskarzinoms	44
Abbildung 6: TMA Ösophaguskarzinom.....	45
Abbildung 7: Gewebeprobe nach Anfärbung	47
Abbildung 8: Verteilung im Pankreaskarzinom.....	53
Abbildung 9: NrCAM-abhängiges Überleben im Pankreaskarzinom.....	55
Abbildung 10: Verteilung im Ösophaguskarzinom	56
Abbildung 11: Verteilung im Adenokarzinom	57
Abbildung 12: Verteilung im Plattenepithelkarzinom	58
Abbildung 13: NrCAM-abhängiges Überleben im Ösophaguskarzinom	61

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: TNM Klassifikation Pankreaskarzinom	18
Tabelle 2: Einteilung nach UICC 2002	19
Tabelle 3: Status R, n, L, V	19
Tabelle 4: TNM-Klassifikation Ösophaguskarzinom.....	31
Tabelle 5: Einteilung nach UICC 2010	32
Tabelle 6: Status R, L, V	32
Tabelle 7: Multitumor TMA Zusammenstellung Block A.....	36
Tabelle 8: Multitumor TMA Zusammenstellung Block B.....	36
Tabelle 9: Multitumor TMA Zusammenstellung Block C	37
Tabelle 10: Multitumor TMA Zusammenstellung Block D	37
Tabelle 11: Multitumor TMA Zusammenstellung Block E.....	37
Tabelle 12: Multitumor TMA Zusammenstellung Block F.....	38
Tabelle 13: Multitumor TMA Zusammenstellung Block G	38
Tabelle 14: Multitumor TMA Zusammenstellung Block H	38
Tabelle 15: Gesamtschau der Tumorentitäten	39
Tabelle 16: TMA Zusammensetzung Pankreaskarzinom.....	41
Tabelle 17: TMA Zusammensetzung Ösophaguskarzinom	44
Tabelle 18: Auswertung immunhistochemie nach Reaktionsstärke	47
Tabelle 19: NRCAM-Expression in den verschiedenen Tumortypen des Multi-Tumor-Arrays ..	49
Tabelle 20: Assoziation von pT-Stadium und NrCAM Expression	54
Tabelle 21: Assoziation von pT-Stadium und NrCAM Expression gruppiert.....	54
Tabelle 22: Assoziation von NrCAM Expression und Pankreaskarzinom-Phänotyp.....	54
Tabelle 23: Assoziation von pT-Stadium und NrCAM Expression	58
Tabelle 24: Assoziation von NrCAM Expression und Ösophaguskarzinom Phänotyp.....	59
Tabelle 25: Assoziation von pT-Stadium und NrCAM Expression im Adenokarzinom	60
Tabelle 26: Assoziation von pN-Status und NrCAM Expression im Adenokarzinom	60

1 Einleitung

1.1 Hypothese und Fragestellung

In einer vorhergehenden Dissertation (Antje Krohn) wurden Zelllinien und Primärtumoren verschiedener humaner Tumortypen mittels Array-komparativer genomischer Hybridisierung (aCGH) auf DNA-Kopiezahlveränderungen untersucht.

Im Zuge dieser Analysen wurde bei einem Ösophaguskarzinom (Case # 4021, Herkunft: Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Thoraxchirurgie des UKE) ein Amplikon auf Chromosom 7q31 detektiert, das unter anderem das Gen für das Adhäsionsmolekül NrCAM enthielt.

Aufgrund des Erfolgs von Antikörper-basierenden Therapien gegen membranständige Moleküle, und der damit verbundenen tumorbiologischen Bedeutung von Membranproteinen wie NrCAM wurde dieses Gen für weitere Validierungsexperimente ausgewählt.

Ziel dieser Arbeit ist es, die Häufigkeit von NrCAM Expression in allen humanen Tumortypen zu vergleichen. Tumortypen, welche in der primären Analyse eine erhöhte Expressionsrate von NrCAM aufwiesen, wurden genauer untersucht, um eine Aussage bezüglich einer etwaigen klinischen und prognostischen Relevanz treffen zu können.

1.2 NRCAM und andere CAMs

Das auf Chromosom 7q31 liegende Gen NrCAM (Neuronal Cell Adhesion Molecule) codiert für ein Zelladhäsionsmolekül der Immunglobulin-Superfamilie.

Diese Immunglobulin-Superfamilie unterteilt sich nach Struktur und Sequenz in zwei Subgruppen. Die F11- Gruppe wird von F3/F11, TAG-1/Axonin-1, Big-1 und Big-2 gebildet. In der L1-Familie werden vier einander in der Struktur ähnelnde Zelladhäsionsproteine zusammengefasst werden; L1, CHL1 (close homolog of L1), NrCAM und Neurofascin.. Dabei handelt es sich um komplexe

transmembrane Proteine, deren Ca^{2+} -unabhängige Zell-Zell-Interaktionen durch die extrazelluläre Domäne ermöglicht wird, während die kleinere cytoplasmatische Domäne reversiblen Kontakt zum Aktin-Zytoskelett aufbauen kann (Maness and Schachner 2007).

Wichtige Aufgaben hat diese Gruppe von Adhäsionsmolekülen in der Entwicklung des Nervensystems, wobei eben genannte Proteine beim Aufbau und Erhalt von Nervenstrukturen und neuromuskulären Verbindungen beteiligt sind (Baldwin, Fazeli et al. 1996; Tessier-Lavigne and Goodman 1996). Erstmals wurde NrCAM 1977 aus embryonaler Hühnerretina isoliert und mit initialer Adhäsion neuraler Zellen in Zusammenhang gebracht (Thiery, Brackenbury et al. 1977). Während der Embryonalentwicklung ist NrCAM bereits im Blastoderm, Ektoderm, Mesoderm, Neuralrohr, Neuralplatte und Endothel vorhanden. Dort spielt es eine wichtige Rolle in der Zellgruppenformierung, neuralen Entwicklung, Neuroblastenmigration und dem regulierten Auswachsen von Neuriten. Ähnlich wie L1 reguliert NrCAM wichtige Schritte der Integrin-abhängigen Zellmigration, des axonalen und dendritischen Zellwachstums und der Synaptogenese.

NrCAM baut sich extrazellulär aus 5 Ig-ähnlichen und 2 Fibronectin-III-homologen Domänen auf. Drei unterschiedliche Spleißvarianten können die cytoplasmatische Domäne bilden und definieren dadurch die jeweilige Isoform von NrCAM. Dabei werden in Abhängigkeit der cytoplasmatischen Domäne die Isoformen 180 kDa, 140 kDa und eine Glycophosphatidylinositol (GPI)- Isoform von 120 kDa unterschieden (Edelman and Crossin 1991; Schmid and Maness 2008). Durch unterschiedliche Spleißvarianten auf mRNA-Ebene und deren Kombination wiederum ist eine hohe Anzahl unterschiedlicher NrCAM-Proteine möglich (Barthels, Vopper et al. 1992).

Die drei Isoformen sind in der Embryonalentwicklung unterschiedlich verteilt und differieren je nach Entwicklungsschritt und Hirnregion. Es wurde beispielsweise die 180 kDa Isoform eher differenzierten Geweben des Gehirns zugesprochen, wo es die Differenzierung steuert und Stabilisierung von Zellkontakten vermittelt (Pollerberg, Sadoul et al. 1985; Pollerberg, Schachner et al. 1986; Pollerberg, Burridge et al. 1987).

An der Zelloberfläche kann NrCAM wie auch andere Mitglieder der Ig-Superfamilie homophile und heterophile Wechselwirkungen mit anderen Mitgliedern der gleichen Familie, anderen Zelladhäsionsproteinen oder der extrazellulären Matrix eingehen (Mauro, Krushel et al. 1992; Morales, Hubert et al. 1993; Ranheim, Edelman et al. 1996).

Die durch NrCAM vermittelte Zelladhäsion wird sowohl durch die Rezeptordichte als auch vom Grad der Polysialysierung moduliert (Edelman and Crossin 1991; Tessier-Lavigne and Goodman 1996). PSA (Polysialic Acid) ist ein dynamisch reguliertes Produkt der post-translationalen Modifikation von NrCAM. Es moduliert die NrCAM-Bindungseigenschaften durch Vergrößerung des Interzellularspaltes und beeinflusst Interaktionen zwischen anderen Zelloberflächenmodulen. Beispielsweise erhöht ein niedriger PSA-Anteil den Zell-Zell-Kontakt und triggert kontaktabhängige Signalwege. Ein hoher PSA-Anteil hingegen kann Zell-Zell-Interaktionen hemmen (Rutishauser, Acheson et al. 1988; Acheson, Sunshine et al. 1991). Die PSA-Expression unterliegt zelltypischen und entwicklungspezifischen Veränderungen und korreliert mit der Zellmotilität. Beim menschlichen Erwachsenen wird PSA in Regionen besonderer neuraler Plastizität sowie regenerierender neuraler und muskulärer Gewebe beobachtet. Studien legen eine Funktion des PSA-NrCAMs in Lern- und Gedächtnisvorgängen, sowie der Tumrobiologie nahe (Edelman 1985; Hoffman and Edelman 1987; Eckhardt, Muhlenhoff et al. 1995; Nelson, Bates et al. 1995).

Weitere mögliche Veränderungen betreffen die extrazelluläre Domäne von NrCAM und können organspezifisch sein. So wurde beispielsweise MSD1 (Muscle Specific Sequence Domain) als muskelspezifische Aminosäuresequenz auf mRNA-Ebene nachgewiesen, welche die extrazelluläre Struktur des Moleküls verändert (Dickson, Gower et al. 1987).

Bekannt sind des Weiteren lösliche Formen von NrCAM, welche in Plasma, cerebralem Extrazellulärraum und Liquor nachgewiesen werden können. Dabei handelt es sich um eine NrCAM-120 Isoform, welche in den Extrazellulärraum entlassen wird. Zudem können lösliche Moleküle durch extrazelluläre Spaltung der transmembranen Isoformen 180 und 140 entstehen. Darüber hinaus

wurden aber auch intakte transmembrane Isoformen nachgewiesen, was auf eine aktive Sekretion hindeutet. Die Funktion der löslichen NrCAM Moleküle ist noch nicht abschließend geklärt (Krog, Olsen et al. 1992; Olsen, Krog et al. 1993). Möglicherweise wird durch Bindung an zelluläres NrCAM die Zelladhäsion vermittelt. Lösliches NrCAM kann die Migration von Schwannzellen stimulieren oder durch die Bindung an die Oberfläche von Astrozyten deren Proliferation in vitro hemmen (Krushel, Tai et al. 1998; Thomaidou, Coquillat et al. 2001). Eine weitere Studie zeigte die Hemmung der Zellproliferation und Induktion der neuralen Differenzierung in embryonalen Hippocampuszellen der Ratte durch lösliches NrCAM (Shin, Lee et al. 2002).

NrCAM findet sich sowohl auf Neuronen als auch auf Gliazellen und vermittelt Neuronen-Neuronen, Neuronen-Astrozyten sowie Astrozyten-Astrozyten-Adhäsion (Keilhauer, Faissner et al. 1985). Eine Inaktivierung von NrCAM in Knock-out-Mäusen führt zu Defiziten im räumlichen Lernen, sowie einer Größenreduktion des Gehirnes. Davon ist insbesondere der Bulbus olfactorius als Hinweis für dessen Beteiligung in plastischen Hirnprozessen betroffen. Zudem ist ein mit dem NrCAM-Knock-out einhergehender Verlust von PSA beschrieben, welches bekanntermaßen ebenfalls in plastischen Prozessen eine modulierende Rolle spielt (Tomasiewicz, Ono et al. 1993; Cremer, Lange et al. 1994).

Ein negativer Effekt des NrCAM-Verlustes wurde auch in den Moosfasern des Hippocampus von NrCAM-defizienten Knock-out-Mäusen dargestellt. Bei den Moosfasern des Hippocampus handelt es sich um wichtige Bahnen innerhalb des Gehirns, in denen Axonenwachstum ein Leben lang die Plastizität erhält. In diesem Bereich ist üblicherweise eine hohe Konzentration von NrCAM messbar. In den NrCAM-defizienten Mäusen hingegen waren die Faszikulation und das Axonenwachstum hochgradig gestört, sowie die Architektur der Moosfasern beeinträchtigt. Dies betraf insbesondere erwachsene Mäuse, so dass eine essentielle Rolle des NrCAM für die Erhaltung der Hirnplastizität naheliegt (Cremer, Chazal et al. 1997; Seki and Rutishauser 1998).

In peripheren Nerven und in Muskeln ist NrCAM bei der Regeneration beteiligt. So zeigte sich in Hühnern und Mäusen eine erhöhte Expression nach Durch-

trennung des N. ischiadicus im Bereich der Verletzung sowie in den betreffenden Motoneuronen des Vorderhorns (Daniloff, Levi et al. 1986). Zudem konnte eine erhöhte Regenerationsfähigkeit des jungen im Vergleich zum älteren Muskel des Erwachsenen in Ratten gezeigt werden (Olsen, Zuber et al. 1995).

Auch nach Schlaganfällen scheint NrCAM bei der Regeneration und Revascularisierung beteiligt zu sein. An Geweben aus erkrankter und gesunder Hirnsubstanz wurde eine positive Beeinflussung der Angiogenese von Mikrogefäßen unter anderem durch NrCAM gezeigt. Dabei unterstütze NrCAM mit anderen Molekülen die Endothelzellmigration, Gefäßstabilisierung und Differenzierung in Gebieten der Revaskularisierung (Slevin, Krupinski et al. 2009).

Eine Unterbrechung der Signalwege von Zelladhäsionsmolekülen kann zu bestimmten Entwicklungsstörungen und neuropsychiatrischen Störungen führen. Dabei wurden Mutationen oder Polymorphismen mit bestimmten Erkrankungen in Zusammenhang gebracht. Mutationen im für L1 codierenden Gen wurden ursächlich der X-chromosomal vererbten mentalen Retardierung zugeschrieben (Kenwrick, Watkins et al. 2000). CHL1 zeigt Assoziationen zu niedrigem IQ und sprachlich-motorischer Verzögerung (Frints, Marynen et al. 2003). Für Polymorphismen von NrCAM findet sich ein Zusammenhang von Schizophrenie und bipolaren Störungen (Vawter 2000; Vawter, Freed et al. 2000; Atz, Rollins et al. 2007).

Genetische Veränderungen spielen beim Autismus, einer mit Wahrnehmungsstörungen und Informationsverarbeitungsstörungen verbundenen kindlichen Entwicklungsstörung des Gehirns eine wesentliche Rolle. Ein verdächtiger Genlocus liegt auf Chromosom 7q31, so dass das dort liegende NrCAM in Assoziation zum Autismus heftig diskutiert wird (Ashley-Koch, Wolpert et al. 1999). Bei der Untersuchung der Genkandidaten NrCAM, LAMB1, LRRN3 und KIA0716 in 30 betroffenen Familien konnte kein direkter Zusammenhang zum Autismus hergestellt werden, lediglich bei LAMB1 fand sich eine Assoziation welche keine statistische Signifikanz erreichte (Hutcheson, Olson et al. 2004). Eine Fallkontrollstudie mit mehr als 350 Patienten konnte jedoch kürzlich eine

signifikante Assoziation von NrCAM-SNPs (Single-Nucleotide Polymorphism) zum Autismus zeigen und NrCAM somit als Genkandidat aufzeigen (Marui, Funatogawa et al. 2009).

Zudem werden NrCAM oder SNP-Varianten mit einer Prädisposition für Abhängigkeitserkrankungen in Verbindung gebracht. Als ein Modell für Abhängigkeitsverhalten wurde der Kaffeekonsum kürzlich im Zusammenhang mit NrCAM in einer Metaanalyse sowie in Zelllinien untersucht und eine enge Assoziation nahegelegt (Amin, Byrne et al. 2011). Neu ist diese Verbindung hingegen nicht. Bekanntermaßen wird NrCAM in Neuronen exprimiert, die an Erinnerungs- und Belohnungsvorgängen beteiligt sind. Im Tiermodell wurde eine herabgesetzte Empfindlichkeit gegenüber Opiaten und Aufputschmitteln in NrCAM-defizienten Mäusen gezeigt (Ishiguro, Liu et al. 2006). Eine Assoziation zum Alkoholismus ließ sich bei der Untersuchung von fast 1600 Japanern aber nicht bestätigen (Ishiguro, Gong et al. 2008).

Zwar wird NrCAM vor allem im Nervensystem exprimiert und variiert während dessen Entwicklung, allerdings ist es auch in vielen nicht-neuronalen Geweben wie Plazenta, Pankreas, Nebennieren und anderen exprimiert (Wang, Williams et al. 1998). So exprimiert beispielsweise normales Lebergewebe NrCAM in den Gallengängen, nicht aber in den Hepatozyten (Ahmad, Iyer et al. 2009).

Die Angiogenese ist nicht nur für embryonales Wachstum oder die Reparatur von Gewebeschäden, sondern auch für Tumorwachstum essentiell. In experimentellen Modellstudien konnte eine bis zu 10fach erhöhte Hochregulierung von unter anderem NrCAM gezeigt werden, welches somit nachweislich an der Angiogenese und ggf. auch indirekt an der Tumorgenese beteiligt ist (Glienke, Schmitt et al. 2000; Aitkenhead, Wang et al. 2002). Dabei liegt die Beteiligung von Zelladhäsionsproteinen in der Tumorgenese ohnehin nahe, werden doch Adhäsionsproteine für die Zellmigration, dem Zell-Zell-Kontakt und der Differenzierung benötigt. Andererseits könnte man auch annehmen, dass der Verlust eines Adhäsionsproteins den Zell-Zellkontakt schwächt und so eine ungerichtete Tumorprogression sowie Metastasierung erleichtert. Beispiele für die Beteiligung von NrCAM an der Tumorgenese und

sein Vorkommen in Malignomen sind zahlreich, jedoch scheint die Funktion vielfach nicht geklärt.

Insbesondere das Vorkommen in Tumoren neuralen und neuronalen Ursprungs ist nicht überraschend, da in den betreffenden Organen NrCAM bereits im Normalgewebe zahlreich exprimiert wird.

Ependymome beispielsweise, sind Tumoren des Gehirns, welche vornehmlich aus Zellen der Ventrikelwandung oder des Spinalkanals entstehen. Bei der Untersuchung von 47 Ependymomen wurde die Überexpression von NrCAM in Tumoren mit hohem Proliferationsindex mit einer schlechten Prognose assoziiert (Lukashova-v Zangen, Kneitz et al. 2007).

Weitere Tumore des ZNS, wie z.B. Glioblastome, Gliome, Astrozytome zeigen im Vergleich zum Normalgewebe eine hochgradige Überexpression von NrCAM. Neuroblastome, Meningiome und Melanome zeigen eine Überexpression in geringerem Ausmaß (Sehgal, Boynton et al. 1998). Als Konsequenz eben genannter Erkenntnisse konnte die selbe Forschergruppe ein mögliches Therapieziel aufdecken. In einer mit antisense hNrCAM transfizierten humanen Glioblastomzelllinie (2020-CRL) konnte eine Reduktion der nativen NrCAM Expression erreicht werden. Somit reduzierte sich die Zellproliferationsrate und änderte sich die Zellmorphologie sowie Länge des Zellzyklus. Zudem wurde durch antisense hNRCAM die Anzahl von Zellkolonien in Agar reduziert. Die subcutane Injektion von antisense hNrCAM in Mäuse hatte eine komplette Hemmung von Tumorwachstum zur Folge. Wurde die Injektion in vorbestehende Tumoren verabreicht, zeigte sich ein verlangsamtes Tumorwachstum (Sehgal, Ricks et al. 1999).

In der aggressiveren, alveolären Form des kindlichen Rhabdomyosarkoms (ARMS) findet sich eine deutliche Überexpression von NrCAM im Vergleich zur mildereren, embryonalen Form (ERMS) (Lae, Ahn et al. 2007).

Das kleinzellige Bronchialkarzinom (SCLC Small Cell Lung Cancer) ist ein neuroendokriner Tumor der Lunge und zeigt im Gegensatz zu Adenokarzinomen und anderen nicht kleinzelligen Bronchialkarzinomen (NSCLC Non

Small Cell Lung Cancer) eine Überexpression von NrCAM (Taniwaki, Daigo et al. 2006).

Als weiterer Tumor neuroektodermalen Ursprungs gilt das Maligne Melanom. In diesen Tumoren sowie im Colonkarzinom wurde NrCAM als Zielgen des β -Catenin Signalwegs identifiziert. Dieser Signalweg ist bei der Entwicklung von Zelladhäsion, Zellwachstum und Zellformationen wie Epithelien beteiligt und ankert wie NrCAM auch am Aktin Zytoskelett und spielt eine aktivierende Rolle in der Entwicklung des Malignen Melanoms (Larue and Delmas 2006).

Dabei kann sowohl der β -Catenin-Signalweg als auch NrCAM durch das SKI-Protein aktiviert werden. Die SKI-Proteine sind nucleäre Protoonkoproteine und hemmen den TGF- β -Signalweg durch Interaktion mit Smad-Proteinen. Dabei sind sie an Differenzierung, Transformation und Tumorprogression beteiligt. Eine zusätzliche Rolle spielen SKI-Proteine auch außerhalb des Zellkerns, wo sie mit zunehmender Dedifferenzierung von Melanozyten zu malignen Zellen vermehrt zu finden sind. So finden sich SKI-Proteine im Gegensatz zu normalen Melanozyten bei metastatischen malignen Melanomzellen nicht mehr vornehmlich im Zellkern sondern in erhöhter Konzentration im Cytoplasma. Dort können sie als transkriptionale Aktivatoren den β -Catenin-Signalweg anstoßen und NrCAM aktivieren. Die Funktion der SKI-Proteine ist noch nicht endgültig geklärt, kann es doch sowohl als Tumorsupressor, als auch als Transformationsprotein fungieren. Der Verlust einer einzelnen SKI-Kopie auf Genebene kann in Mäusen eine erhöhte Anfälligkeit für Tumorentstehung verursachen. Hingegen ist die Überexpression von SKI-Proteinen in Menschen mit Tumorprogression in Melanomen, Ösophagus-, Pankreas-, Mamma- und Colonkarzinomen assoziiert (Reed, Lin et al. 2005; Heider, Lyman et al. 2007; Akagi, Miyashita et al. 2008).

In einer Fibroblastenzelllinie (NIH3T3) konnte NrCAM auch ohne anwesendes Serum die Apoptose durch Aktivierung der extrazellulären SRK (Signal Regulated Kinase) und AKT Proteinkinase hemmen. Retroviral in die Fibroblasten eingebrachtes NrCAM induzierte Zellmotilität und Tumorwachstum. Zudem fand die Forschergruppe um Conacci-Sorell Komplexe von NrCAM und α 4 β 1integriren in Melanomzellen als Zeichen für die Vermittlung von

heterophilen Adhäsionen mit der Extrazellulärmatrix. Eine Suppression von NrCAM durch siRNA (small interfering RNA) in der B16 Melanomzelllinie von Mäusen hemmte deren adhesive und tumorigenische Aktivität (Conacci-Sorrell, Ben-Yedidia et al. 2002; Conacci-Sorrell, Kaplan et al. 2005).

In papillären Schilddrüsenkarzinomen konnte eine erhebliche Überexpression von NrCAM eine im Vergleich zum Normalgewebe sowohl auf mRNA-, als auch auf Proteinebene unabhängig von Tumorgröße- und Stadium gezeigt werden (Hucz, Kowalska et al. 2006; Gorka, Skubis-Zegadlo et al. 2007).

NrCAM ist des Weiteren auf der Zelloberfläche im Bereich der Azini und verstärkt im Bereich von Zell-Zell-Kontakten des Pankreas exprimiert. Eine schwächere oder auch gar keine immunhistochemische Färbung findet sich in duktafen Zellen. Die NrCAM Expression ist hingegen in intraduktalen Hyperplasien hochreguliert. Insgesamt findet sich eine immunhistochemische Anfärbung, die mit der Differenzierung des Pankreasgewebes korreliert. In gut oder mäßig differenziertem Gewebe ist die NrCAM Expression noch vorhanden, kann aber in schlecht differenzierten Tumoren oder Metastasen kaum noch nachgewiesen werden. Dies legt die Annahme einer Supressorfunktion nahe, ist der Verlust von NrCAM doch mit maligner Dedifferenzierung assoziiert und könnte so den Ansatzpunkt für neue Therapiekonzepte liefern (Dhodapkar, Friedlander et al. 2001).

Entsprechende Beispiele finden sich bei anderen Adhäsionsmolekülen wie C-CAM und L1. C-CAM (Cell-CAM) zeigt in Kolonkarzinomen ein vergleichbares Verhalten wie NrCAM in Pankreaskarzinomen. Dieses Zelladhäsionsprotein wird auch Biliary Glycoprotein (BGP) genannt und gehört zu den CEAs (Carcinoembryonic antigens), einer Subklasse der Immunglobulin- Superfamilie. Im kolorektalen Karzinom sinkt mit zunehmender Dedifferenzierung die Expression von C-CAM im Vergleich zur normalen Kolonschleimhaut. So könnte der Verlust oder die reduzierte Expression von C-CAM neben der Überexpression von CEA einen wichtigen frühen Schritt in der kolorektalen Karzinogenese darstellen (Johnson 1991; Neumaier, Paululat et al. 1993). CEAs haben sich als Tumormarker für kolorektale Karzinome im klinischen Alltag bereits lange durchgesetzt und bewährt.

Der Verlust von C-CAM wird auch im humanen Prostatakarzinom als früher Schritt der Krzinogenese diskutiert. Auch hier findet sich eine mit zunehmender maligner Dedifferenzierung abnehmende Expression von C-CAM. Seine Funktion als Tumorsupressor untermauert die Transfizierung von C-CAM cDNA in eine humane Prostatakarzinomzelllinie (PC3), welche eine Hemmung der Tumorformation in Mäusen zur Folge hat. Zudem verursacht die verminderte C-CAM Expression in einer nicht-tumorösen Prostatazelllinie von Ratten (NbE) eine zunehmende Tumorentwicklung in Versuchsmäusen (Kleinerman, Troncoso et al. 1995).

Ein Charakteristikum des Ovarialzellkarzinoms ist unter anderem die Überexpression von NrCAM, welches so die Differentialdiagnose von peritonealen Metastasen gegenüber dem Mammakarzinom erlaubt (Davidson, Stavnes et al. 2011). Eine Studie zeigte die erfolgreiche Reduktion des Tumorzellwachstum von Ovariakarzinomzelllinien in vitro und in vivo durch L1-Protein gerichtete Antikörper (chCE7). Ähnliche Therapiemodelle könnten in der Zukunft auch für NrCAM Anwendung finden (Novak-Hofer, Cohrs et al. 2008).

1.3 Das Pankreaskarzinom

Die Bauchspeicheldrüse ist ein Organ mit exokriner Verdauungsfunktion, welche es mit Hilfe von Enzymen wie Pepsin, Elastase, Trypsin, Lipase u.a. wahrnimmt. Ebenso hat es auch eine endokrine Funktion durch Ausschüttung von Hormonen (Insulin, Somatostatin, Glucacon u.a.) aus den Zellen der Langerhans-Inseln.

Die Drüse kann von unterschiedlichen Tumorentitäten befallen werden. Benigne Tumoren sind z.B. Pankreaspseudozysten oder Zystadenome. Maligne Tumoren sind das Adenokarzinom des Pankreas, neuroendokrine Tumoren des oberen Gastrointestinaltraktes, intrapapilläre mucinöse Neoplasien oder Karzinome der Gallenwege. In dieser Dissertation wird auf das hochaggressive und mit schlechter Prognose verbundene Pankreaskarzinom Bezug genommen.

Das Pankreaskarzinom entsteht aus Vorläuferläsionen, namentlich PanIn (Intraepitheliale Neoplasie), MCN (mucinöse cystische Neoplasie) und IPMN

(Intrapapilläre mucinöse Neoplasie), und unterliegt bestimmten genetischen Veränderungen auf welche im Abschnitt der Genetik näher eingegangen wird (Maitra, Fukushima et al. 2005). Dabei treten PanINs häufiger auf und werden nach dem Differenzierungsgrad in drei Stadien (I-III) unterteilt (Hruban, Takaori et al. 2004).

Die Tumorausbreitung findet zunächst per continuitatem durch Infiltration des peripankreatischen Gewebes statt, einhergehend mit einer Infiltration der Perineuralscheiden. Die lymphogene, regionale Metastasierung erfolgt früh, gefolgt von der hämatogenen Metastasierung in Leber, Peritoneum, Lunge, Pleura, Skelett und Nebenniere.

Das Pankreaskarzinom tritt mit einer Inzidenz von 10/100 000 Einwohnern meist im Pankreaskopf, seltener im Korpus oder Schwanz auf und befällt Männer häufiger als Frauen. Das Erkrankungsalter gipfelt zwischen 60 und 75 Jahren. Obwohl das Pankreaskarzinom nur 6% aller bösartigen Erkrankungen des Erwachsenen ausmacht, ist es aufgrund der bei später Diagnosestellung oft limitierten Therapiemöglichkeiten die vierthäufigste tumorbedingte Todesursache mit einer 5-Jahres-Überlebensrate von weniger als 8%. Das mediane Überleben beträgt drei bis sechs Monate, so dass die Mortalitätsrate nahezu der Inzidenz entspricht (RKI 2010).

Nikotinkonsum als Risikofaktor ist bereits lange bekannt und erhöht die Wahrscheinlichkeit an einem Pankreaskarzinom zu erkranken um das Doppelte (Falk, Pickle et al. 1988; Lowenfels, Maisonneuve et al. 1994).

Bauchspeicheldrüsenentzündungen, beispielsweise auf dem Boden von Autoimmunerkrankungen oder Alkoholabusus erhöhen das Risiko für Pankreaskarzinome ebenso signifikant (Lowenfels, Maisonneuve et al. 1993; Bansal and Sonnenberg 1995). Alkoholabusus allein ist nur ein moderater Risikofaktor und führt vielleicht eher wegen des oftmals begleitenden Nikotinkonsums oder nachfolgender chronischer Pankreatitiden zu einem erhöhten Risiko für Pankreaskarzinome (Talamini, Bassi et al. 1999; Ye, Lagergren et al. 2002).

Eine Assoziation zur Fettleibigkeit und balaststoffarmer Ernährung wird kontrovers diskutiert (Soler, Chatenoud et al. 1998), jedoch gibt es Hinweise auf

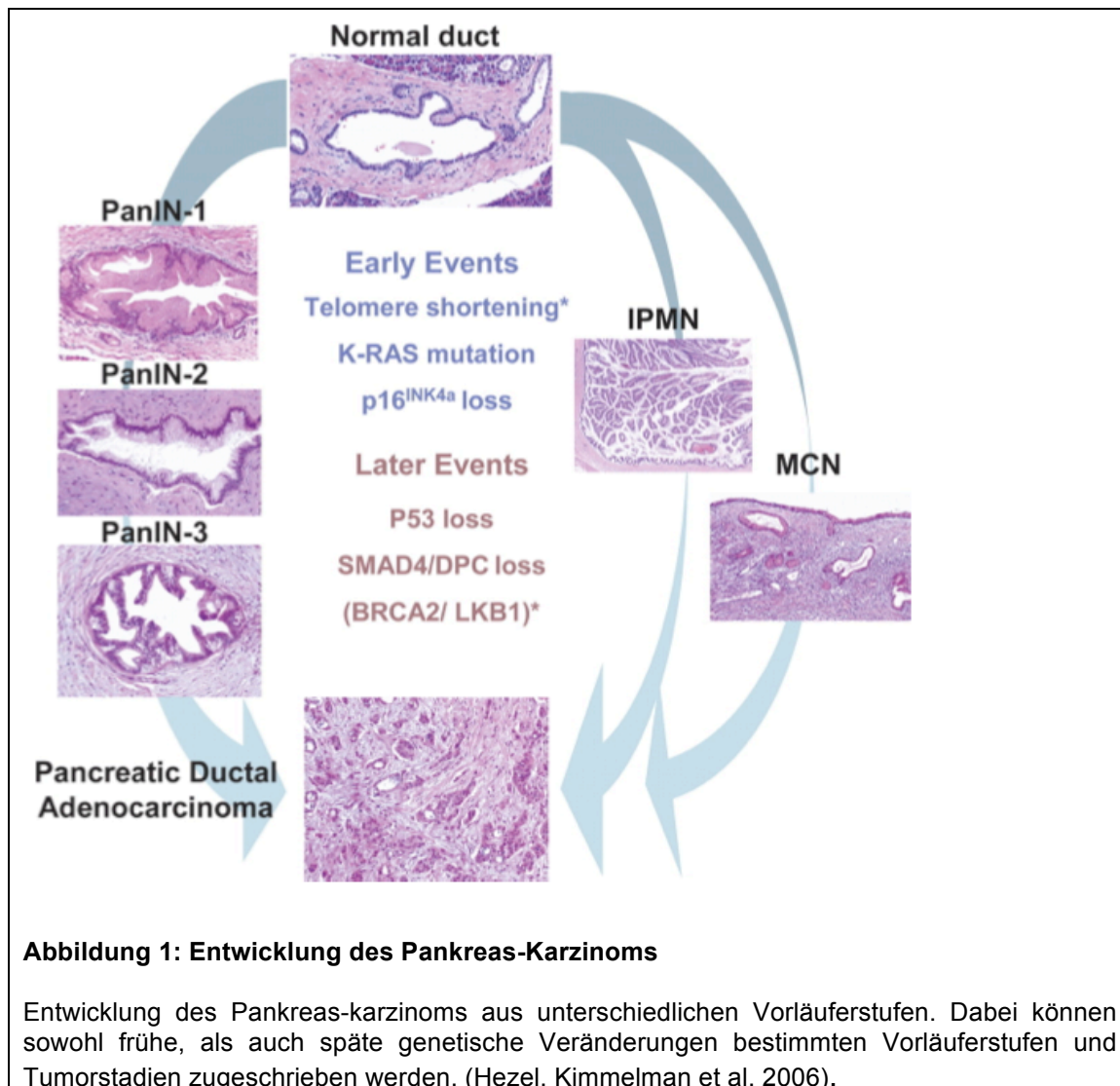
einen Zusammenhang zwischen kohlenhydrat- und cholesterinreicher Ernährung und Pankreaskarzinomen sowie einer Risikoreduktion durch gemüse- und obsthaltige Kost sowie Vitamin C (Ji, Chow et al. 1995; Fernandez, La Vecchia et al. 1996; Nkondjock, Krewski et al. 2005).

Diabetes ist ein weiterer Risikofaktor für die Entwicklung eines Pankreaskarzinoms. Etwa 1 % der Diabetiker im Alter von 50 Jahren oder jünger entwickeln in den folgenden 3 Jahren ein Pankreaskarzinom. Weitere Studien zeigen ein geringer erhöhtes Risiko auf. Dabei muss allerdings berücksichtigt werden, dass Diabetes auch ursächlich durch ein Pankreaskarzinom bedingt sein kann (Gullo, Pezzilli et al. 1994; Chari, Leibson et al. 2005; Rousseau, Parent et al. 2006).

1.3.1 Genetik des Pankreaskarzinoms

Nach derzeitigem Wissensstand entsteht das exokrine Pankreaskarzinom, ähnlich wie andere Malignomen aus prämaligen Vorstufen des Epithels im Pankreasgangsystem (PanIN, MCN, IPMN) im Sinne einer Mehr-Schritt-Karzinogenese. Diese kann sowohl durch äußere Einflüsse getriggert, aber auch durch bestimmte genetische Veränderungen ursächlich bedingt sein. Die genetischen Veränderungen können einer zeitlichen Reihenfolge entsprechend der Tumorentwicklung zugesprochen werden; reviewed in (Hezel, Kimmelman et al. 2006).

Bekannte genetische Veränderungen betreffen beispielsweise das K-RAS-Gen auf Chromosom 9p21. Dieses Gen gehört zur RAS-Familie der GTP-bindenden Proteine und ist Mediator zahlreicher Zellfunktionen wie Proliferation, Differenzierung und Überleben (Campbell, Khosravi-Far et al. 1998; Malumbres and Barbacid 2003)



Eine Mutation des Codons 12 ist eine der ersten erforschten genetischen Aberrationen und kann sporadisch in normalem Pankreasgewebe, aber mit 30% der frühen Neoplasien und nahezu 100% der fortgeschrittenen Pankreaskarzinome nachgewiesen werden (Almoguera, Shibata et al. 1988; Klimstra and Longnecker 1994; Rozenblum, Schutte et al. 1997). Zudem konnte diese Mutation sowohl mit Frühstadien der Tumorprogression bei intraepithelialen Neoplasien (PanIN), als auch mit der Zellproliferation beim Pankreaskarzinom in Zusammenhang gebracht werden und stellt neben der Telomerverkürzungen eine der ersten Veränderungen in der Karzinogenese des Pankreaskarzinoms dar. (Lemoine, Jain et al. 1992; Moskaluk, Hruban et al. 1997; Fleming, Shen et al. 2005).

Der Wachstumsfaktorrezeptor EGFR sowie sein Ligand TGF α sind ebenfalls in Pankreaskarzinomen nachweisbar. Dabei findet sich in immunhistochemischen Untersuchungen TGF α in normalem Pankreasgewebe sowie in chronisch entzündetem Pankreatitisgewebe und in 95% der Pankreaskarzinome. Während der EGFR-Rezeptor in Normalgewebe immunhistochemisch nicht nachweisbar ist, ist er aber in 12% der Pankreaskarzinomgewebe vorhanden (Barton, Hall et al. 1991). Als Zeichen der Beteiligung bei der Tumorgenese findet sich auch für EGFR und TGF α kodierende mRNA zu einem bis zu 10-fach höheren Anteil in Pankreaskarzinomen als in Normalgewebe (Korc, Chandrasekar et al. 1992). Die Überexpression von ERBB3 in Tumorzellen des Pankreas konnte mit fortgeschrittenem Tumorstadium und schlechterer Prognose in Zusammenhang gebracht werden (Friess, Yamanaka et al. 1995). Experimentelle Studien konnten *in vitro* eine Hemmung des EGFR-induzierten Zellwachstums und Invasion in Pankreaskarzinomen durch den EGFR-Inhibitor Gefitinib nachweisen (Li, Kleeff et al. 2004).

Ein weiteres Gen ist das Tumorsuppressorgen p53 auf dem kurzen Arm des Chromosoms 17. Entscheidende Bedeutung hat es bei der Regulation des Zellzyklus, des programmierten Zelltods (Apoptose), der DNA-Replikation und Reparatur. Ebenso spielt es eine wichtige Rolle bei der Differenzierung und Entwicklung und ist an der Stabilität des Genoms beteiligt (Hainaut and Hollstein 2000; Vousden and Lu 2002). Seine Wirkung entfaltet es, indem es geschädigte Zellen entweder in der G1-Phase des Zellzyklus arretiert und so die Zeitspanne für eine mögliche Reparatur verlängert oder deren programmierten Zelltod (Apoptose) einleitet (Lane 1992). Mittlerweile wurden in bis zu 50 % der Karzinome Mutationen im Tumorsuppressorgen nachgewiesen. P53 ist somit das am häufigsten mutierte Gen in allen menschlichen Tumoren (Hollstein, Sidransky et al. 1991; Olivier, Eeles et al. 2002).

In mehr als 50% der Pankreaskarzinome können Mutationen des p53-Gens nachgewiesen werden (Rozenblum, Schutte et al. 1997), wobei diese entsprechend der Theorie der Mehrschritt-Karzinogenese in späteren Dys-

plasiestadien der PanIN-Läsionen nachweisbar sind (Boschman, Stryker et al. 1994; Maitra, Adsay et al. 2003).

Ein Funktionsverlust des Tumorsuppressorgens INK4A und somit des Genproduktes p16, beispielsweise durch Mutation oder Deletion kann in 80-95% der sporadischen Pankreaskarzinome beobachtet werden (Rozenblum, Schutte et al. 1997).

Der Verlust von INK4A ist in mäßiggradig fortgeschrittenen Läsionen mit Dysplasiezeichen zu beobachten. Keimbahnmutationen in INK4A zeigen eine Assoziation zum FAMMM-Syndrom (Familial atypical Mole-Malignant Melanoma). Unter dem FAMMM-Syndrom (inklusive Pankreas-Karzinom-Melanom-Syndrom) leidende Patienten haben ein bis zu 13faches Lebenszeitrisiko an einem Pankreaskarzinom zu erkranken. Zudem ist das FAMMM-Syndrom durch eine hohe Inzidenz von Malignen Melanomen gekennzeichnet (Goldstein, Fraser et al. 1995; Whelan, Bartsch et al. 1995; Lynch, Brand et al. 2002).

Eine erbliche Erkrankung ist das autosomal dominant vererbliche Peutz-Jeghers Syndrom. Durch die Entwicklung zahlreicher Polypen im Gastrointestinaltrakt (Hamartome) und hohem Lebenszeitrisiko für die Erkrankung an unterschiedlichen Malignomen, gibt das Peutz-Jeghers Syndrom als Präkanzerose. Der Verlust des Tumorsuppressorgens Serin/Threonin-Kinase (STK11/LBK1) durch Keimbahnmutationen auf Chromosom 19p13.3 wird ursächlich mit bis zu 80% der Peutz-Jeghers Erkrankungen in Zusammenhang gebracht. Betroffene haben ein 36- 42% iges Lebenszeitrisiko, an einem Pankreaskarzinom zu erkranken (Hearle, Schumacher et al. 2006).

Personen, in deren Umfeld Verwandte ersten Grades an einem Pankreaskarzinom erkrankt sind, haben ein zweifach erhöhtes Risiko, an einem Pankreaskarzinom zu erkranken (McWilliams, Rabe et al. 2005). Dabei spricht man von einem sporadischen Pankreaskarzinom in der Familie (sporadic pancreatic cancer kindred SPC). Dieses wird vom familiären Pankreaskarzinom (familial pancreatic cancer kindred FPC) unterschieden, welches dann angenommen wird, wenn in einer Familie mindestens zwei erstgradig

Verwandte an einem Pankreaskarzinom erkrankt sind ohne dass die Familie die Kriterien eines anderen erblichen Syndroms erfüllt (Klein, Brune et al. 2004). Die Fälle von FPC lassen sich histologisch nicht von anderen Tumoren unterscheiden, auch ein spezifischer Genlocus ist noch nicht bekannt. In einigen Fällen konnte eine Mutation des CDKNA-Gens auf Chromosom 9p21 und somit ein Funktionsverlust des p16-Proteins nachgewiesen werden (Bartsch, Sina-Frey et al. 2002)

Ein erhöhtes Risiko für ein Pankreaskarzinom haben auch Patienten und Angehörige von Patienten mit hereditärem Mamma- und Ovarialkarzinom. In Familien mit bekannten Keimbahnmutationen des BRCA2 oder BRCA1 Gens scheint das Pankreaskarzinomrisiko deutlich gesteigert zu sein. Ein Studie konnte eine Keimbahnmutation des BRCA2 Gens in 17% der familiären Pankreaskarzinome nachweisen (Murphy, Brune et al. 2002), in einem Literaturreview wurde ein erhöhtes Risiko von 20-60% für Magen- und Pankreaskarzinome angegeben (Friedenson 2005). BRCA2-Veränderungen stellen späte Ereignisse in der Karzinogenese des Pankreaskarzinoms dar und sind daher häufiger in IPMNs und invasiven Karzinomen zu beobachten (Hruban, Maitra et al. 2008)

Auch weitere Tumorsyndrome wie das Ataxie-Teleangiektase-Syndrom, Hereditary nonpolyposis colon cancer HNPCC, das Li-Fraumeni-Syndrom oder das Gardner-Syndrom sind mit dem erhöhten Risiko eines Pankreaskarzinoms assoziiert (Li and Fraumeni 1969; Offerhaus, Giardiello et al. 1992; Lynch, Smyrk et al. 1993).

Einhergehend mit der hereditären Pankreatitis ist ein deutlich erhöhtes Risiko bis zum Alter von 70 Jahren an einem Pankreaskarzinom zu erkranken. Das kumulative Risiko, ein Pankreaskarzinom bis zum 70. Lebensjahr zu entwickeln, liegt in bei den Betroffenen zwischen 40 und 44 % (Lowenfels, Maisonneuve et al. 1997; Howes, Lerch et al. 2004).

1.3.2 Diagnostik und Therapie des Pankreaskarzinoms

Die Symptomatik ist weitestgehend unspezifisch und tritt erst bei fortgeschrittener Tumorerkrankung auf. Frühkarzinome finden sich daher im klinischen Alltag selten und stellen meist einen Zufallsbefund dar. B-Symptomatik wie Nachtschweiß, Gewichtsverlust und Abgeschlagenheit als unspezifisches Symptom wird häufiger beobachtet. Betroffene Patienten klagen über Oberbauch- und Rückenschmerzen, welche gürtelartig empfunden werden können. Auch kann ein neu aufgetretener Diabetes mellitus Hinweis für eine maligne Erkrankung des Pankreas sein. Ein häufig erstes Symptom ist der schmerzlose Ikterus, bedingt durch den mechanischen, tumorbedingten Galleaufstau (Cholestase) in der Leber, aber auch eine Magenausgangsstenose kann durch den Tumor verursacht werden.

Als Hinweis auf einen mit Cholestase einhergehenden Prozess im Pankreaskopf werden Laborparameter wie Bilirubin und Transaminasen bestimmt. Auch kann ein erhöhter Lipase- oder Amylasewert im Serum als Hinweis auf eine begleitende Pankreatitis dienen. Unspezifisch ist eine bei malignen Erkrankungen häufiger zu beobachtende Anämie oder Hyperkalziämie. Die für das Pankreaskarzinom verwendeten Tumormarker CEA und CA 19-9 sind in der Diagnostik zu unspezifisch, können aber zur Verlaufskontrolle verwendet werden.

Neben den Laborparametern und der körperlichen Untersuchung ist die Abdomensonographie häufig der erste diagnostische Schritt, wobei gleichzeitig die Frage nach Leberfilialisierung oder Cholestase beantwortet werden kann. Zeigt sich dabei eine suspekta Raumforderung im Bereich des Pankreaskopfes oder des Leberhilus, kann durch endoskopischen Ultraschall eine genauere Bestimmung der anatomischen Gegebenheiten und lokalen Tumorausbreitung erfolgen. Zudem bietet die endosonographisch gesteuerte Feinnadelpunktion die Möglichkeit der Biopsiegewinnung und somit histologischen Diagnosesicherung (Harewood and Wiersema 2002). Zusätzlich kann die Endoskopie (Endoskopische retrograde Cholangiopankreaticographie ERCP) Aufschluss über mögliche Stenosen und gleichzeitig über eine Bürstenprobe zytologisches Material zur Diagnosesicherung beitragen, wird aber aufgrund der

eingeschränkten Sensitivität in den AWMF-Leitlinien nicht empfohlen (AWMF 2010).

Zur Beurteilung der Lymphknotenmetastasierung und Infiltration benachbarter Strukturen ist eine Computertomographie des Abdomens zur präoperativen Planung unabdingbar und hat die Anzahl der diagnostischen Laparoskopien um ein vielfaches vermindert (White, Winston et al. 2008). Zudem besteht die Möglichkeit durch die Magnetresonanztomographie den Gallen- und Pankreasgang selektiv mit Kontrastmittel darzustellen (Magnetresonanztomographische Cholangiopankreaticographie MRCP).

Mithilfe dieser diagnostischen Maßnahmen kann vor der Therapie das Tumorstadium festgelegt werden. Dies bedeutet, dass der Tumor nach festgelegten Kriterien der UICC (International Union Against Cancer) nach Tumorausdehnung und Nachweis von Metastasen in bestimmte Stadien eingeteilt wird. Tabelle 1 und Tabelle 2 zeigen eine Übersicht über diese Einteilung (Edge SB 2010).

Tabelle 1: TNM Klassifikation Pankreaskarzinom

TNM-Klassifikation UICC 2002	
T=Primärtumor	
TX	Primärtumor nicht beurteilbar
T0	Kein Anhalt für Primärtumor
Tis	Carcinoma in situ
T1	Tumor begrenzt auf Pankreas, 2 cm oder weniger in größter Ausdehnung
T2	Tumor begrenzt auf Pankreas, mehr als 2 cm in größter Ausdehnung
T3	Tumor breitet sich jenseits des Pankreas aus, jedoch ohne Infiltration des Truncus coeliacus oder der A. mesenterica superior
T4	Tumor infiltriert Truncus coeliacus oder A. mesenterica superior
N=Lymphknoten	
NX	Regionäre Lymphknoten nicht beurteilbar
N0	Keine regionären Lymphknotenmetastasen
N1	Regionäre Lymphknotenmetastasen vorhanden
M=Fernmetastasen	
MX	Fernmetastasen nicht beurteilbar
M0	Keine Fernmetastasen
M1	Fernmetastasen vorhanden

Tabelle 2: Einteilung nach UICC 2002

UICC- STADIUM	TNM-System		
Stadium 0	Tis	N0	M0
Stadium IA	T1	N0	M0
Stadium IB	T2	N0	M0
Stadium IIA	T3	N0	M0
Stadium IIB	T1-T3	N1	M0
Stadium III	T4	Jedes N	M0
Stadium IV	Jedes T	Jedes N	M1

Tabelle 3: Status R, n, L, V

R= Residualtumor (Resttumor nach OP)	
R0	Kein Residualtumor
R1	Mikroskopisch nachgewiesener Residualtumor
R2	Sichtbarer Residualtumor
n=perineurale Invasion	
n0	Keine perineurale Invasion
n1	Perineurale Invasion
L=Lymphgefäßinvasion	
L0	Keine Lymphgefäßinvasion
L1	Lymphgefäßinvasion
V=Blutgefäßinvasion	
V0	Keine Blutgefäßinvasion
V1	Blutgefäßinvasion

Die abschließende Tumorklassifikation durch den Pathologen gibt Aufschluss über die zu erwartende Prognose und ist Grundstein für die weitere Therapieplanung. Aus diesem Grund muss die Untersuchung und Tumorklassifikation hohen Qualitätsstandards genügen und festgelegte Kriterien erfüllen. Kriterium der R0-Resektion ist beispielsweise der tumorfreie Absetzungsrand am Ductus hepaticus, an der Pankreasresektionsfläche, sowie zirkumferentiell und zum retroperitonealen Präparaterand (Compton and Henson 1997; Luttgies, Zamboni et al. 1999). Zudem müssen Fernmetastasen ausgeschlossen oder operativ reseziert worden sein. Die durch den Pathologen angegebene Tumorklassifikation enthält neben dem pT-, pN- und R-Status auch die Anzahl der untersuchten Lymphknoten, welche in der Regel über 10 liegen sollte. Wichtig, da ebenfalls aussagekräftig im Bezug auf die Prognose ist die Angabe der

Lymphgefäß-, Blutgefäßinvasion und Nervenscheideninvasion, welche mit L, V und n angegeben wird.

Therapieziele sind die restlose Tumorsektion und gleichzeitig der Erhalt der normalen Körperfunktion, insbesondere der Verdauung und Blutzuckerregulierung. Einzig kurativer Therapieansatz ist die Operation. Je nach Ort der Tumormanifestation und Operabilität kommen unter Berücksichtigung des einzuhaltenden Sicherheitsabstandes unterschiedliche Operationsverfahren in Frage. Zum einen kann eine organerhaltende Tumorsektion oder eine Pankreaslinksresektion, ggf. mit Splenektomie durchgeführt werden. Bei größeren, oder ungünstig gelegenen Tumoren ist die Duodenopankreatektomie nach Whipple, ggf. mit Magenresektion Operation der Wahl. Bei letzterer ist insbesondere der retropankeratische Absetzungsrand sowie die obere Mesenterialvene hinsichtlich der R0-Resektions häufig limitierend, zumal ein Sicherheitsabstand von 10mm zum Tumor gefordert wird. Ob die Whipple'sche Operation in klassischer Weise oder als „pp-Whipple“ (pyloruserhaltend) durchgeführt wird, ist für das postoperative Outcome nicht ausschlaggebend, beide Verfahren werden gemäß den S3-Leitlinien mit einem Evidenzgrad A im Konsens als gleichwertig betrachtet.

Nach R0/R1-Resektion eines Pankreaskarzinoms besteht im UICC-Stadium I-III eine Indikation zur adjuvanten Chemotherapie., welche nach Empfehlungen der AWMF-Leitlinien innerhalb von sechs Wochen nach der Operation begonnen und für 6 Monate fortgeführt werden (AWMF 2010).

Als adjuvantes oder additives (nach R0- oder R1-Resektion) Chemotherapeutikum ist Gemcitabine das Mittel der Wahl und anderen Monotherapien gegenüber überlegen (Burriss, Moore et al. 1997). Dabei verlängert Gemcitabine das rezidivfreie Überleben, nicht jedoch das Gesamtüberleben (Oettle, Post et al. 2007). Alternativ kann auch 5-Fluoruracil verwendet werden (Neoptolemos, Stocken et al. 2004).

Ein positiver Effekt der adjuvanten Radiochemotherapie im Falle von R1-Resektionen wurde diskutiert (Stocken, Buchler et al. 2005), jedoch ließ sich in einer randomisierten klinischen Studie kein positiver Effekt der Radio-

chemotherapie nachweisen (Neoptolemos, Stocken et al. 2004). Aus diesem Grund wird die adjuvante oder additive Radiochemotherapie mit 5-Fluoruracil nicht generell empfohlen und bleibt bisher klinischen Studien vorbehalten.

Im Falle eines organüberschreitenden Wachstums diffuser Metastasierung oder aufgrund von Comorbiditäten bestehender Inoperabilität, rücken palliative Therapieansätze in den Fokus. Diese haben das Ziel die Lebensqualität zu verbessern und Komplikationen wie extrahepatische Cholestase oder eine Magenausgangsstenose, Gewichtsverlust und Tumorschmerzen zu vermeiden.

Vor Beginn einer palliativen Chemotherapie muss zunächst die Diagnose, z.B. durch eine Feinnadelpunktion histologisch gesichert werden (David, Green et al. 1998; AWMF 2010).

In einer Metaanalyse klinischer Studien wurde eine deutliche Verbesserung des 1-Jahres-Überlebens durch die palliative Chemotherapie mit 5-Fluoruracil oder Gemcitabine gezeigt (Yip, Karapetis et al. 2006). In der palliativen Primärtherapie ist gemäß S3-Leitlinien der Therapie mit Gemcitabine der Vorzug zu geben, so dass die Indikation zur Einleitung der Chemotherapie mit Gemcitabine und Fortführung bis zum Tumorprogress besteht. In mehreren klinischen Phase-III-Studien zeigten sich 1-Jahres-Überlebensraten von 18-20% (Burris, Moore et al. 1997; Berlin, Catalano et al. 2002; Van Cutsem, van de Velde et al. 2004; Louvet, Labianca et al. 2005; Heinemann, Quietzsch et al. 2006).

Tritt ein Tumorprogress ein, stehen für die Zweitlinientherapie Kombinations-Schemata zur Verfügung. So konnte für die Kombinationen Gemcitabine/Oxaliplatin und Gemcitabine/Cisplatin ein verbessertes Ansprechen gezeigt werden, eine statistische Überlegenheit war jedoch nicht nachweisbar (Louvet, Labianca et al. 2005; Heinemann, Quietzsch et al. 2006). Die Kombination von Gemcitabine/Capacitabine bei Patienten in gutem Allgemeinzustand der Monotherapie mit Gemcitabine überlegen (Herrmann, Bodoky et al. 2007), eine Phase-III-Studie zeigte die signifikante Überlegenheit der Kombination hinsichtlich des progressionsfreien Überlebens sowie einen Trend zu verlängertem Gesamtüberleben (Cunningham, Chau et al. 2009).

Diese Therapie hat bisher noch keinen Einzug in die Empfehlungen der S3-Leitlinien gefunden. Letztere werden zum aktuellen Zeitpunkt jedoch überarbeitet, so dass in Zukunft eine Favorisierung der Kombination Gemcitabine/Capacitabine möglich ist.

Ein weiterer Fortschritt ist die Kombination von Gemcitabine mit dem EGFR-Inhibitor Erlotinib. Für diese Kombination konnte ein statistisch längeres Gesamtüberleben im Vergleich zur Monotherapie mit Gemcitabine gezeigt werden (24% vs. 19%, median verlängertes Überleben von zwei Wochen) (Moore, Goldstein et al. 2007).

Treten unter dem Tumorprogress Komplikationen wie Cholestase, Ikterus, Magenausgangsstenose, Schmerzen und Gewichtsverlust auf, können supportive Maßnahmen zum Einsatz. So können zum Beispiel endoskopische Stents Mittels ERC zur Galleableitung angebracht werden, wobei je nach zu erwartendem Überleben ein Metall- oder Kunststoffstent eingebracht werden kann. Generell ist den langlebigeren Metallstents der Vorzug zu geben (Moss, Morris et al. 2006). Interventionell-radiologisch kommt als ultima Ratio auch eine percutane Ableitung der gestauten Gallenwege (PTCD) in Betracht. Die PTCD ist zwar mit höheren Risiken behaftet als die Stenteinlage mittels ERC, jedoch kann eine ERC z.B. nach Whipple'scher Operation erschwert, wenn nicht gar unmöglich sein (Speer, Cotton et al. 1987).

Anderenfalls kann auch operativ eine biliodigestive Anastomose oder Gastroenterostomie durchgeführt werden. Wird während einer mit kurativer Intention begonnenen Operation eine Metastasierung und somit eine Palliativsituation festgestellt, sollte die Operation abgebrochen oder allenfalls eine palliative Gastroenterostomie zur Verhinderung einer Magenausgangsstenose angelegt werden (Lillemo, Cameron et al. 1999). Eine Operation nach Whipple kann nach individueller Entscheidung auch in einer M1-Situation vorgenommen werden, wobei dieses Vorgehen abseits der Leitlinienempfehlungen steht (Shrikhande, Kleeff et al. 2007). Auch wurde die Whipple'sche Operation in der Palliativsituation zur Schmerzreduktion diskutiert. Zwar stellt der Eingriff eine exzellente Schmerzkontrolle sicher, ist aber trotz niedriger perioperativer Sterblichkeit nur in Einzelfällen mit dem

Patienten zu diskutieren und wird bisher lediglich als experimentelles Vorgehen angesehen (Mann, Strate et al. 2006).

Der häufig therapieresistente Pankreasschmerz kann nach Versagen peripher wirksamer Analgetika und Opiode durch palliative Bestrahlung gelindert werden. Eine Schmerzfreiheit lässt sich damit bei 50-85% der Patienten erreichen. Auch durch eine Infiltration im Bereich des Ganglion coeliacus mit absolutem Alkohol einer thorakoskopischen Sympathikolyse oder einer intrathekalen Opioidgabe kann ebenso eine Schmerzausschaltung erreicht werden (Gilmer-Hill, Boggan et al. 1999; Staats, Hekmat et al. 2001; Stefaniak, Basinski et al. 2005). Eine kombinierte Radiochemotherapie kann zur Palliation von Knochenmetastasen durchgeführt werden.

Die chirurgische Resektion als einzig kurativer Therapieansatz hat eine perioperative Mortalität von unter 5% und kann so zu 5-Jahres-Überlebensraten von 25% führen. Dabei sind begünstigende Faktoren eine Tumorgröße unter 2cm, tumorfreie Resektionsränder, lymphknoten-negative Tumoren sowie das Ausbleiben einer perineuralen – oder Gefäßinvasion (Kuvshinoff and Bryer 2000; Garcea, Dennison et al. 2008). So kann ein medianes Überleben von 15,5 Monaten erreicht werden. Im Falle von tumorfreien Resektionsrändern, also einer kurativen Tumoroperation, beträgt dieses laut einer Studie sogar 18 Monate mit einer 5-Jahres-Überlebensrate von 26%. Zum Zeitpunkt der Diagnosestellung ist allerdings bei nur 15-20% der Patienten eine kurative Operabilität gegeben. In Fällen mit tumorbefallenen Resektionsrändern sank die Überlebensrate drastisch auf bis zu 8 % und einer medianen Überlebenszeit von 10 Monaten (Yeo, Cameron et al. 1995). Die mittlere Überlebensrate bei ausschließlich palliativen Maßnahmen beträgt 6-9 Monate.

1.4 Das Ösophaguskarzinom

Ösophaguskarzinome sind bösartige Tumore der Speiseröhre und kommen gehäuft im asiatischen Raum vor, gewinnen jedoch durch steigende Inzidenzzahlen auch in den westlichen Industrieländern an größerer Bedeutung. Dabei wird zwischen dem Plattenepithel- und dem Adenokarzinom unterschieden,

welche sich hinsichtlich ihres histologischen Bildes, der Ätiologie, der Lokalisation und Genetik unterscheiden.

Insbesondere die Inzidenz des Adenokarzinoms nimmt in westlichen Industrieländern zu, wohingegen das bisher deutlich häufiger vorkommende Plattenepithelkarzinom in etwa gleich bleibt oder sogar rückläufig ist (Hansen, Wiig et al. 1997; Devesa, Blot et al. 1998; Levi, Randimbison et al. 2001; Spechler 2002). Insgesamt sind Ösophaguskarzinome die sechst häufigste maligne Erkrankung weltweit mit einer Inzidenz von 462.117 im Jahre 2002, wobei die Verteilung zwischen Männern und Frauen ca. 3:1 beträgt (Kollarova, Machova et al. 2007; Lambert and Hainaut 2007).

In etwa 70% der Fälle handelt es sich um **Plattenepithelkarzinome (PCA)** welche in westlichen Ländern 2-5% aller Malignome ausmachen. In Deutschland ist das PCA die häufigste maligne Erkrankung der Speiseröhre (Offner 2000). Plattenepithelkarzinome sind im gesamten Ösophagus mit Bevorzugung des mittleren und unteren Drittels (jeweils 40%) zu finden. Prädilektionsstellen sind die drei physiologischen Engen (Bereich des oberen Ösophagusmundes, Höhe der Trachealbifurkation und Kardiabereich).

Bekannte Risikofaktoren für das Entstehen eines PCA sind Nikotin- und Alkoholabusus, wobei diese beiden Risikofaktoren einen synergistischen Effekt zeigen (Morita, Saeki et al. 2002). Eine langandauernde Exposition gegenüber diesen Noxen steht auch im Zusammenhang mit der Entstehung von Plattenepithelkarzinomen der Atemwege, inklusive des Mundbodens (Morita, Araki et al. 2003).

In Asien sind im Gegensatz zu Europa über 75% der Ösophagustumore PCA (Wu, Chen et al. 2006). Insbesondere im asiatischen Raum ist die Entstehung vielfach alimentär bedingt. Chronische Schleimhautschädigung durch heiße Speisen und Getränke, Pilztoxine, Nitrosamine und Vitaminmangelzustände werden als Ursachen diskutiert (Appelqvist and Salmo 1980; Silber 1985; Yu, Taylor et al. 1993).

Weitere Ursachen sind zum Beispiel in der Achalasie zu finden, wobei diese Grunderkrankung das Risiko für ein PCA bis zu 33fach erhöht (Meijssen,

Tilanus et al. 1992). Ebenso kann durch das Plummer-Vinson-Syndrom, eine siderophagische Dysphagie infolge postmenopausaler Eisenmangelanämie, die Entstehung eines PCA begünstigt werden (Offner 2000). Tylose, eine autosomal vererbte Erkrankung mit abnormer Keratinisierung der Hand- und Fußflächen bringt ein nahezu 100%iges Risiko eines PCA vor Erreichen des 65. Lebensjahres mit sich (Howel-Evans, Mc et al. 1958; Marger and Marger 1993).

Eine zunehmende Aufmerksamkeit erregt die Infektion mit dem HPV-Virus, dessen mögliche Assoziation zum PCA des Ösophagus in der Literatur kontrovers diskutiert wird. Bekannt ist bereits die Assoziation von HPV-16 und HPV-18 Stämmen zum Zervixkarzinom (Munoz, Bosch et al. 2003).

Die Prävalenz von HPV in den untersuchten Ösophagustumoren schwankt in der Literatur zwischen 0 und 60% (Chen, Yin et al. 1994; Benamouzig, Jullian et al. 1995; Fidalgo, Cravo et al. 1995). Als onkogener Effekt des HPV gelten die viralen Proteine e6 und e7, welche die Wirkung des t-Tumoruppressorgens und des Retinoblastomgens rb1 unterdrücken können (Stemmermann, Heffelfinger et al. 1994).

Die in den USA unter der schwarzen Bevölkerung 5fach höhere Inzidenz des PCA kann als Hinweis auf genetische Faktoren bei der Entstehung des Ösophaguskarzinoms verstanden werden (Yang and Davis 1988).

In etwa 30% der Ösophaguskarzinome handelt es sich um **Adenokarzinome (ADC)** mit drüsenartiger Differenzierung. Anders als beim PCA mit Verteilung im gesamten Ösophagus, sind ADC am ehesten im unteren Drittel der Speiseröhre oder im gastroösophagealen Übergang zu finden (Daly, Fry et al. 2000).

Der Grund für diese Verteilung liegt in der Entstehung des Adenokarzinoms. Auf dem Boden einer Refluxerkrankung kann durch chronische Reizung eine Metaplasie mit dem Vollbild eines Barrett-Ösophagus entstehen, wobei das Plattenepithel durch Zylinderepithel ersetzt wird (Romero, Cameron et al. 2002; Ronkainen, Talley et al. 2011).

Auch beim ADC sind Männer deutlich häufiger betroffen als Frauen, wobei die Inzidenz des ADC in den westlichen Industriestaaten deutlich steigt (Cook, Wild et al. 2005; Brown, Devesa et al. 2008). Die steigende Inzidenz ist am ehesten mit den in den Industriestaaten häufiger anzutreffenden Risikofaktoren für eine gastroösophageale Refluxerkrankung (GERD) zu erklären.

Dabei stellt Adipositas zwar nur einen indirekten Risikofaktor für eine Refluxerkrankung dar (Cook, Greenwood et al. 2008), eine dadurch bedingte Erhöhung des intraabdominellen Druckes kann jedoch zur Refluxösophagitis und nachfolgender Metaplasie mit erhöhtem Entartungsrisiko beitragen (El-Serag 2008)

Das Risiko eines ADC ist bei refluxbedingter Barrett-Schleimhaut bis zu 100-150-fach erhöht und die Chance das sich die Metaplasie in eine Dysplasie umwandelt etwa 0,5% pro Jahr (Schuchert and Luketich 2007).

1.4.1 Genetik des Ösophaguskarzinoms

In Zellen der Ösophagusschleimhaut können spontan, oder durch äußere, schädigende Einflüsse genetische Veränderungen auftreten, welche bei fehlenden Kontrollmechanismen oder unter dem Einfluss von Karzinogenen zur Entstehung maligner Tumoren führen. Eine solche molekulare Veränderung kann nach dem Prinzip der „Mehrschritt-Karzinogenese“ eine Folge von Mutationen hervorrufen. Betreffen diese Defekte Wachstumsfaktorezeptoren oder Zellzykluskontrollgene, kann eine solche Kaskade gemäß der Metaplasie-Dysplasie-Karzinom-Sequenz nach vielen Jahren zu einem apparenten Karzinom führen (Werner, Mueller et al. 1999).

Neben äußeren Einflüssen können auch genetische Prädispositionen Ursache eines Ösophaguskarzinoms sein. Bekannt ist dafür der dominant vererbte Gendefekt im TOC Gen „Tylosis Oesophageal Cancer Gene“ auf Chromosom 17q23, welcher bei Betroffenen die Entstehung des Ösophaguskarzinoms bedingen kann (Kelsell, Risk et al. 1996). Das Gen wurde allerdings von der selben Forschergruppe auch bei 24 von 35 sporadischen Ösophagus-

karzinomen nachgewiesen. So kann ein Verlust der Heterozygotie von TOCG mit dem Auftreten von sporadischen Ösophaguskarzinomen in Verbindung gebracht (von Brevern, Hollstein et al. 1998).

Wie bei zahlreichen anderen Tumoren, spielen auch beim Ösophaguskarzinomen Störungen in der Kontrolle von Zellproliferation und Zelldifferenzierung sowie beim kontrollierten Zelltod (Apoptose) auf zellulärer Ebene eine Rolle in der Karzinogenese. Dabei stellen die Überexpression von Protoonkogenen und die Inaktivierung von Tumorsuppressorgenen entscheidende molekulare Ereignisse dar, welche einen selektiven Wachstumsvorteil sowie eine klonale Expansion während des Mehrstufenprozesses der Karzinogenese ermöglichen. Bekannte Onkogene sind beispielsweise der Epidermal Growth Factor Receptor, Cyclin D1 und die Telomerase. Für das Ösophaguskarzinom bedeutsame Gene sind eine Rolle beispielsweise und das Retinoblastomgen.

Das p53 ist ein Tumorsuppressorgen, das auf dem kurzen Arm des Chromosoms 17 (17p13) lokalisiert ist. Die Funktion wurde bereits im vorangegangenen Kapitel über Pankreaskarzinome beschrieben. In Karzinomen des Ösophagus können derartige Aberrationen des p53-Gens in etwa 33-55% der Fälle nachgewiesen werden, wobei PCA häufiger betroffen sind als ADC. (Meltzer, Yin et al. 1991; Maesawa, Tamura et al. 1994). Durch Verlust oder Schädigung des Gens und dessen Wächterfunktion kann es unter dem Einfluss von Karzinogenen zu unkontrolliertem Wachstum fehlerhafter Zellen und einer malignen Entartung kommen. Insofern kommt es auch beim Ösophaguskarzinom durch eine Aneinanderreihung von genetischen Aberrationen erst zur malignen Entartung des Normalgewebes (Werner, Mueller et al. 1999).

Wachstumsfaktoren sind entscheidend für das Zellwachstum und die Regulation des Zellzyklus. Die Dysregulation von Wachstumsfaktoren und deren Rezeptoren kann im Ösophaguskarzinom wie in anderen malignen Tumoren wesentlich an der Karzinogenese beteiligt sein. HER2 gehört zur Familie der epidermalen Wachstumsfaktoren (EGFR) und stimuliert die Zellproliferation über den RAS-MAP-Kinase Signalweg. Beim Mammakarzinom ist eine Dysregulation des Wachstumsfaktorrezeptors HER2 im Sinne von

Amplifikationen und Überexpressionen in 15-30% der Fälle beschrieben (Ross and Fletcher 1999). Ähnliche Amplifikationsraten finden sich auch im ADC, aber auch im PEC des Ösophagus (Mimura, Kono et al. 2005; Sunpaweravong, Sunpaweravong et al. 2005; Tanner, Hollmen et al. 2005; Reichelt, Duesedau et al. 2007). Amplifikationen und Überexpression von HER2 im Ösophaguskarzinom konnten mit einer schlechteren Prognose in Zusammenhang gebracht werden (Sunpaweravong, Sunpaweravong et al. 2005; Stoecklein, Hosch et al. 2008; Zhan, Dong et al. 2011).

Trastuzumab [Herceptin®] ist ein bekannter monoklonaler Antikörper gegen die extrazelluläre Domäne von HER2 und wird bereits erfolgreich in der Therapie des Mammakarzinoms verwendet. In einer großen Multicenterstudie mit 584 Patienten konnte auch bei Ösophaguskarzinomen mit nachgewiesener HER2 Amplifikation oder Überexpression ein signifikanter Überlebensvorteil durch die Therapie mit Trastuzumab gezeigt werden (Bang, Van Cutsem et al. 2010). Die Weiterentwicklung der gezielten Antikörpertherapie steht hier jedoch am Anfang und hat sich in der klinischen Praxis bis noch nicht durchgesetzt. Ein möglicherweise kritischer Faktor ist dabei vor allem die in der Literatur kontrovers diskutierte inhomogene Amplifikation und Expression innerhalb der gastrointestinalen Primärtumoren (Marx, Tharun et al. 2009; Kunz, Mojtahed et al. 2011; Yang, Luo et al. 2011).

Weitere Veränderungen auf Genomebene können die Entstehung eines Ösophaguskarzinoms begünstigen. So sind beispielsweise Allelverluste (LOH= Loss of Heterozygosity) der Chromosomregion 3p14.2 bereits im Dyplasie-stadium der Ösophagusschleimhaut bekannt und können in bis zu 80% der PEC, aber auch in ADC nachgewiesen werden. Verantwortlich dafür ist wahrscheinlich das an diesem Locus zu findende Tumorsuppressorgen Fragile Histidine Triad-Gen (FHIT-Gen), welches Karzinogenen gegenüber eine erhöhte Empfindlichkeit aufweist (Miura, Suzuki et al. 1996; Mori, Mimori et al. 2000; Gu, Ajani et al. 2010).

Allelverluste im Bereich der Chromosomenregionen 3p21, 9q32 und 21q und damit Verluste dort befindlicher Tumorsuppressorgene wie z.B. das deleted in

esophageal cancer 1-gene (DEC1-Gen) auf Chromosom 9q32 sind ebenfalls bekannt (Nishiwaki, Daigo et al. 2000) .

Ein LOH im Bereich des Chromosoms 9p21-22 und des dort gelegenen Tumorsupressorgens MTS-1 Gens hat einen Funktionsverlust des Proteins p16 zur Folge. Dieses ist an der Regulation des Zellzyklus beteiligt und kann bei Verlust zu unkontrolliertem Zellwachstum führen. Zudem wird eine Assoziation zu schlechter Prognose und Lymphknotenmetastasierung diskutiert (Montesano, Hollstein et al. 1996; Gamielien, Victor et al. 1998; Takeuchi, Ozawa et al. 2001).

Einen ähnlichen Effekt hat eine Amplifikation des auf Chromosom 11q13 gelegenen Protoonkogens Cyclin D1 und ist ebenfalls mit einer schlechten Prognose assoziiert (Gramlich, Fritsch et al. 1994; Kogo, Mimori et al. 2011). Kürzlich wurden in einer großen Studie im asiatischen Raum die drei zusätzlichen Genloci 5q11, 6p21 und 21q22 mit der Entstehung des Plattenepithelkarzinoms in Zusammenhang gebracht.

1.3.2 Diagnostik und Therapie des Ösophaguskarzinoms

Das Ösophaguskarzinom wird erst spät symptomatisch. Beschwerden sind meist retrosternaler Druck oder Schmerz bei der Nahrungsaufnahme und nachfolgende Dysphagie oder auch eine B-Symptomatik mit Gewichtsverlust, Leistungsknick und Nachtschweiß. Die erste diagnostische Maßnahme ist neben der meist unauffälligen körperlichen Untersuchung und Laboranalyse die Endoskopie. Dabei kann ein makroskopisch sichtbarer Tumor erkannt werden und mittels Biopsien eine histologische Diagnosesicherung erfolgen. Bei Tumorverdacht kann eine Anfärbung mit Methylenblau und Lugol'scher Lösung durchgeführt werden. Entartetes Gewebe wird durch Lugol'sche Lösung im Gegensatz zum umgebenden Normalgewebe nicht angefärbt, so dass auch bei kleineren, suspekten Läsionen eine Aussage hinsichtlich der vermuteten Malignität und ungefähren Ausbreitung getroffen werden kann (Peng, Long et al. 2011). Zudem können Bürstenzytologien Dysplasien frühzeitig erkannt werden (Kumaravel, Lopez et al. 2010). Eine neuere Technologie stellt das

Narrow Band Imaging dar und könnte bald das Anfärben mit Lugol'scher Lösung ersetzen. Dabei wird ein Teil des sichtbaren Lichtes weggefiltert, wodurch die Schleimhaut im gesamten Bereich gefärbt wird. Damit ist es möglich, verdächtige Areale (flache Läsionen und flach eingesunkene Läsionen) sicher zu entdecken (Uedo, Fujishiro et al. 2011)

Aufgrund des fehlenden Serosaüberzugs tritt eine frühe lymphogene Metastasierung auf, so dass bei Diagnosestellung bereits ein fortgeschrittenes Tumorstadium vorliegt.

Zur Wahl der am besten geeigneten Therapie ist es also unerlässlich, die genaue Ausbreitung des Tumors innerhalb der Ösophaguswand, sowie mögliche lymphogene und Fernmetastasierung vor Therapieeinleitung zu kennen. Dafür ist das im Folgenden dargestellte „Staging“ zur Ermittlung des Tumorstatus unverzichtbar.

Die histologische Diagnosesicherung mittels Biopsie steht am Anfang. Dabei kann mikroskopisch ein Karzinom, oder eine Dysplasie bzw. ein Carcinoma in situ vorliegen. Bei letzterem wird zwischen einer Low Grade Dysplasie (LGD) und einer High Grade Dysplasie (HGD) unterschieden. Es bleibt zu beachten, dass Tumoren nicht in der Masse homogen sein müssen. Eine Dysplasie in einem Tumorteil schließt ein invasives Karzinom in einem tiefer gelegenen Tumoranteil nicht aus.

Das Karzinom wird mikroskopisch hinsichtlich seiner Differenzierung in gut, mäßig und schlecht differenziert eingeteilt (G1-3).

Bezüglich der Tumorgröße und Infiltration der Wandschichten steht die endoskopische Ultraschalluntersuchung zur Verfügung. Dadurch wird eine Aussage bezüglich der Eindringtiefe (T1-4) und umgebenden Lymphknotenmetastasen (N0/N1) möglich.

Die Computertomographie des Abdomens und Thorax gibt Aufschluss über Fernmetastasierung z.B. in Leber oder Lunge oder suspekter Lymphknotenveränderungen im oberen Abdomen und Mediastinum.

Mithilfe dieser diagnostischen Maßnahmen kann vor der Therapie das Tumorstadium festgelegt werden. Dies bedeutet, dass der Tumor nach festgelegten Kriterien der World Health Organization (WHO) und International Union Against Cancer (UICC) nach Tumorausdehnung und Nachweis von Metastasen in bestimmte Stadien eingeteilt wird. Die Tabelle 4 zeigt eine Übersicht über diese Einteilung (WHO 2010; Wittekind and Tannapfel 2010)

Tabelle 4: TNM-Klassifikation Ösophaguskarzinom

TNM-Klassifikation UICC 2010	
T=Primärtumor	
TX	Primärtumor nicht beurteilbar
T0	Kein Anhalt für Primärtumor
Tis	Carcinoma in situ / High Grade Dysplasie
T1	Lamina propria, muscularis mucosae (T1a), submucosa /T1b)
T2	Lamina muscularis propria
T3	Adventitia
T4a	Pleura, Perikard, Peritoneum
T4b	Aorta, Wirbelkörper, Trachea
N=Lymphknoten	
NX	Regionäre Lymphknoten nicht beurteilbar
N0	Keine regionären Lymphknotenmetastasen
N1	1-2 Lymphknoten
N2	3-6 Lymphknoten
N3	>6 Lymphknoten
M=Fernmetastasen	
MX	Fernmetastasen nicht beurteilbar
M0	Keine Fernmetastasen
M1	Fernmetastasen vorhanden

Diese TNM-Kriterien verwendet man zur Einteilung der Tumorerkrankung in verschiedene Stadien, welche für die Festlegung der Therapie von entscheidender Bedeutung sind, siehe Tabelle 5 (UICC 2010).

Tabelle 5: Einteilung nach UICC 2010

UICC-Stadium	TNM		
Stadium 0	Tis	N0	M0
Stadium IA	T1	N0	M0
Stadium IB	T2	N0	M0
Stadium IIA	T3	N0	M0
Stadium IIB	T1-T2	N1	M0
Stadium IIIA	T4a	N0	M0
	T3	N1	M0
	T1, T2	N2	M0
Stadium IIIB	T3	N2	M0
Stadium IIIC	T4a	N1, N2	M0
	T4b	Jedes N	M0
	jedes T	N3	M0
Stadium IV	jedes T	jedes N	M1

Weiterhin ist für das Therapiekonzept nach einer Tumoroperation entscheidend, ob der Tumor restlos entfernt wurde. Darüber gibt der R-Status Auskunft, Details siehe in Tabelle 6. Zudem kann durch den Pathologen die Invasion von Lymph- und Blutgefäßen beurteilt werden.

Tabelle 6: Status R, L, V

R= Residualtumor (Resttumor nach OP)	
R0	Kein Residualtumor
R1	Mikroskopisch nachgewiesener Residualtumor
R2	Sichtbarer Residualtumor
L=Lymphgefäßinvasion	
L0	Keine Lymphgefäßinvasion
L1	Lymphgefäßinvasion
V=Blutgefäßinvasion	
V0	Keine Blutgefäßinvasion
V1	Blutgefäßinvasion

Durch diese Einteilung können Patienten identifiziert werden, die von einer Therapie mit kurativem Ansatz profitieren. Gemäß den deutschen S3-Leitlinien zur Diagnostik und Therapie des Ösophagus- und Magenkarzinoms (Moehler, Al-Batran et al. 2011) werden im Nachfolgenden die Therapieoptionen erläutert.

Mit sich immer verbessernder Technik der Endoskopie stehen für frühe intraepitheliale Dysplasie und Frühkarzinome (Tis, T1a) auch weniger invasive therapeutische Möglichkeiten zur Verfügung. So können zum Beispiel durch photodynamische Ablation, Radiofrequenztherapie und endoskopische Mucosaresektionen Frühäsionen kurativ saniert werden (Seewald, Ang et al. 2008).

Ist das Tumorstadium fortgeschrittener, aber eine Fernmetastasierung ausgeschlossen, wird eine multimodale kurative Therapie angestrebt. Zu Beginn der Therapie steht beim Plattenepithelkarzinom die neoadjuvante Radiochemotherapie mit 50 Gy und 3 Zyklen mit 5-Fluorouracil und Cisplatin. Beim Adenokarzinom kann alternativ lediglich eine Chemotherapie durchgeführt werden. Dadurch kann insbesondere bei lokal fortgeschrittenen Tumoren eine deutliche Tumorverkleinerung, Abnahme der Lymphknotenmetastasen und auch ein verbessertes Outcome der Gesamttherapie mit statistisch signifikanter Verlängerung der Überlebenszeit erreicht werden (GebSKI, Burmeister et al. 2007; Fields, Strong et al. 2011; Leibl, Vitz et al. 2011). So wurde beispielsweise durch neoadjuvante Radiochemotherapie ein 5-Jahres-Überleben von 39% im Vergleich zur alleinigen Operation (16%) erreicht (Tepper, Krasna et al. 2008).

Zeigt das nach dem ersten Zyklus durchgeführte Zwischenstaging (Endosonographie, Endoskopie, Computertomographie) ein gutes Ansprechen, wird die kombinierte Radiochemotherapie bis zum Abschluss des zweiten Zyklus durchgeführt. Anderenfalls wird die zeitnahe operative Therapie angestrebt. Komplette Remissionen sind in bis zu 15,6% der Fälle beschrieben (Brucher, Stein et al. 2004; Stahl, Walz et al. 2009).

4-6 Wochen nach Abschluss der Radiochemotherapie kann der Patient, ist die Oberabilität hinsichtlich des Allgemeinzustandes und der lokalen Tumorausdehnung gegeben, einer Operation unterzogen werden. Die chirurgische Therapie betrifft sowohl PEC als auch ADC in gleichem Maße.

Bei thorakaler Tumorlokalisation erfolgt die Resektion in der Regel durch einen thorakoabdominellen Zugang mit Magenhochzug intrathorakaler Anastomose

sowie einer radikalen Lymphadenektomie (Zweifelder-Technik). Liegt der Tumor weit im distalen Ösophagus, kann unter Berücksichtigung des Sicherheitsabstandes auch ein abdomineller Zugang zur distalen Ösophagektomie gewählt werden. Zur Rekonstruktion wird der Magenhochzug durchgeführt, ein Koloninterponat erfolgt lediglich bei Zustand nach vorangegangener Magenresektion oder schlechter Blutversorgung des Magenschlauches (Furst, Hartl et al. 2000).

Insgesamt bleibt bei der Wahl der chirurgischen Therapie der Allgemeinzustand des Patienten zu berücksichtigen. Zwar ist insbesondere in High-Volume Zentren die perioperative Mortalität der Ösophagektomie vergleichsweise niedrig, kann aber bei multimorbiden, geschwächten Patienten zu dennoch erhöhter perioperativer Sterblichkeit und perioperativen Komplikationen mit konsekutiv verzögertem Beginn der adjuvanten Chemotherapie führen. Häufige Komplikationen sind neben Anastomoseninsuffizienzen intraabdominelle Verhalte bzw. Abszesse, Pleuraergüsse, Atelektasen und Pneumonien. Insgesamt sind perioperative Mortalitäts- und Morbiditätsraten mit 5-10%, bzw. bis zu 50% beschrieben (Altorki, Kent et al. 2002; Al-Sarira, David et al. 2007; Oezcelik, Kaiser et al. 2011).

4 bis 6 Wochen im Anschluss an die Operation wird die Chemotherapie adjuvant mit weiteren 6 Zyklen 5-Fluorouracil und Cisplatin komplettiert. Nachfolgend wird gemäß den Leitlinien eine regelmäßige Nachsorge mit Kontrolluntersuchungen durchgeführt.

Besteht eine palliative Situation wie beispielsweise bei reduziertem Allgemeinzustand, Multimorbidität und dadurch bedingter Inoperabilität oder Fernmetastasierung, stehen verschiedene palliative Therapieansätze zur Verfügung. Auch mit palliativer Intention kann eine Radiochemotherapie oder alleinige Chemotherapie, auch im Sinne einer Zweitlinientherapie mit alternativen Zytostatika durchgeführt werden. Besteht eine Stenosesymptomatik mit Dysphagie kann ein endoskopisch eingebrachter Stent die orale Nahrungsaufnahme ermöglichen (Madhusudhan, Saluja et al. 2009). Insgesamt ist das Ziel der palliativen Therapie eine Verbesserung der Lebensqualität (Bergquist, Johnsson et al. 2008). In individuellen Fällen kann eine bei

singulärer operabler Fernmetastase auch ein zweizeitiges chirurgisches Vorgehen erwogen werden.

Abschliessend betrachtet ist das Ösophaguskarzinom ein hoch aggressiver Tumor mit ausgesprochen schlechter Prognose. Diese ist vor allem abhängig von der Tumorausdehnung und Metastasierung (TNM-Stadium) zum Zeitpunkt der Diagnosestellung sowie der Nebenerkrankungen des Patienten (Wilson, Rosato et al. 2008).

Die 5-Jahres-Überlebensrate liegt nach multimodaler Therapie bei etwa 25%-35% (D'Journo, Michelet et al. 2008; Chao, Chan et al. 2009), wobei aber in High-Volume Zentren nach kurativer R0-Resektion auch 5-Jahres-Überlebensraten um 40% beschrieben werden (Siewert, Bartels et al. 1992; Akiyama, Tsurumaru et al. 1994).

Die Überlebenszeit ist selbstverständlich abhängig von der Tumorausbreitung und Metastasierung zum Diagnosezeitpunkt, in vielen Berichten liegt die 5-Jahres-Überlebensrate jedoch um 20% (Jemal, Murray et al. 2005; Defoe, Pennathur et al. 2011).

Lediglich bei Frühkarzinomen kann die Prognose mit Überlebensraten von 60% (ADC) bis zu 80% (PCA) günstiger sein (Holscher, Bollschweiler et al. 1995).

2 Material und Methoden

2.1 Untersuchungsmaterial

2.1.1 Multitumor TMA (V4 Hamburg)

Dieser TMA besteht aus 3981 Tumor- und 600 Kontrollgeweben, die auf 8 TMA Objektträger (Slide A-H) verteilt, gestanzt wurden. Eingeschlossen wurden 100 verschiedene Tumorentitäten.

Das Tumorgewebe wurde in 4%ger Formalinlösung fixiert, und anschließend in Paraffin eingebettet. Außer des histologischen Tumorstadiums wurden keine weiteren klinisch-pathologischen Daten erhoben. Die Schnitte aller Tumoren wurden von zwei Pathologen bezüglich ihres histologischen Tumorstadiums beurteilt. Die Zusammenstellung des Multitumor-Arrays ist in Tabelle 7 bis Tabelle 14 aufgelistet (Reininger 2009).

Tabelle 7: Multitumor TMA Zusammenstellung Block A

Tumortyp	N (Block A)
Nierenzellkarzinom, chromophob	56
Nierenzellkarzinom, klarzellig	68
Nierenzellkarzinom, papillär	31
Nierenzellkarzinom, andere	9
Onkozytom	62
Penis-Karzinom	46
Prostata-Karzinom	63
Seminom	92
Teratom	60
Nicht-Seminom	45

Tabelle 8: Multitumor TMA Zusammenstellung Block B

Tumortyp	N (Block B)
Analkarzinom	18
Colon-Adenom, hochgeradige Dysplasie	40
Colon-Adenom, geringgeradige Dysplasie	56
Colon-Adenokarzinom	60
Dünndarmkarzinom	22
Hepatozelluläres Karzinom	55
Karzinoid	40
Magen, diffuses Adenokarzinom	56
Magen, intestinales Adenokarzinom	62
Ösophagus, Adenokarzinom	60
Ösophagus, Plattenepithelkarzinom	60

Tabelle 9: Multitumor TMA Zusammenstellung Block C

Tumortyp	N (Block C)
Astrozytom	48
Ependymom	10
Larynx, Plattenepithelkarzinom	57
Medulloblastom	4
Mundhöhle, Plattenepithelkarzinom	54
Neuroblastom	51
Oligodendrogliom	28
Schilddrüse, Adenom	65
Schilddrüse, anaplastisches Karzinom	3
Schilddrüse, follikuläres Karzinom	47
Schilddrüse, medulläres Karzinom	28
Schilddrüsekarcinom, papillär	54
Thymom	57
Lymphoepitheliales Karzinom	5

Tabelle 10: Multitumor TMA Zusammenstellung Block D

Tumortyp	N (Block D)
Basaliom	67
Benigner Naevus	59
Haut, Plattenepithelkarzinom	51
Malignes Melanom	37
Merkelzellkarzinom	6
Nebenniere, Adenom	21
Nebenniere, Karzinom	8
Paragangliom	36
Phäochromozytom	64
Pilomatrixom	48
Urothel, Karzinom, (Ta)	62
Urothel, Karzinom, (T2-4)	60
Urothel, Karzinom, andere	10

Tabelle 11: Multitumor TMA Zusammenstellung Block E

Tumortyp	N (Block E)
Gallenblase, Adenokarzinom	30
Großzelliges Bronchialkarzinom	48
Kleinzelliges Bronchialkarzinom	15
Lunge, Adenokarzinom	71
Lunge, Plattenepithelkarzinom	59
Bronchoalveoläres Karzinom	15
Mesotheliom	28
Nicht-kleinzelliges Lungenkarzinom	14
Pankreas, papilläres Adenokarzinom	29
Pankreas, duktales Adenokarzinom	56
Pankreas, neuroendokrines Karzinom	20
Riesenzell-Sehnenscheiden-Karzinom	40
Hodgkin Lymphom	43
Non-Hodkin Lymphom	9

Tabelle 12: Multitumor TMA Zusammenstellung Block F

Tumortyp	N (Block F)
Angiosarkom	7
Basalzelladenom der Speicheldrüse	37
Chondrosarkom	5
Dermatofibrosarkom protuberans	5
Desmoid Tumor	9
Gastrointestinaler Stromatumor (GIST)	46
Granularzelltumor	8
Hämangioperizytom	7
Leiomyom	27
Leiomyosarkom	28
Liposarkom	16
Malignes fibröses Histiocytom	25
Mukoepidermoid-Karzinom	46
Neurofibrom	60
Pleomorphes Adenom der Ohrspeicheldrüse	61
Warthin Tumor	57
Malignes Schwannom	14

Tabelle 13: Multitumor TMA Zusammenstellung Block G

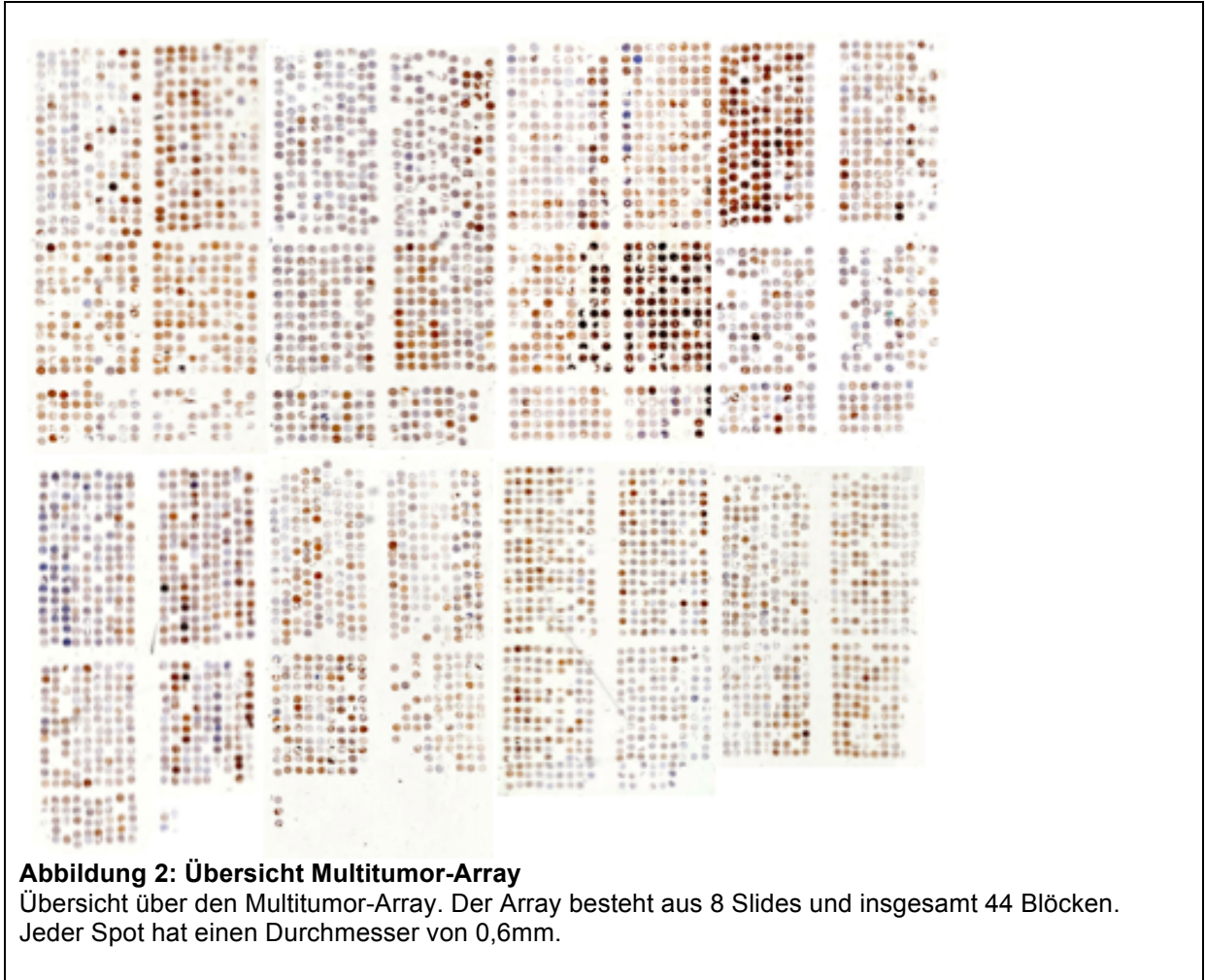
Tumortyp	N (Block G)
Endometrium, endometrioides Karzinom	60
Endometrium, seröses Karzinom	58
Ovar, Brenner Tumor	45
Ovar, endometrioides Karzinom	22
Ovar, muzinöses Karzinom	46
Ovar, seröses Karzinom	63
Vagina, Plattenepithelkarzinom	22
Vulva, Plattenepithelkarzinom	61
Zervix, Adenokarzinom	48
Zervix, Plattenepithelkarzinom	63
Zervix, adenosquamöses Mischkarzinom	3

Tabelle 14: Multitumor TMA Zusammenstellung Block H

Tumortyp	N (Block H)
Karziносarkom	38
Mamma, apokrines Karzinom	17
Mamma, duktales Karzinom	62
Mamma, kribriiformes Karzinom	26
Mamma, lobuläres Karzinom	65
Mamma, medulläres Karzinom	64
Mamma, muzinöses Karzinom	61
Mamma, phylloides Karzinom	48
Mamma, tubuläres Karzinom	60
Uterus, Stromasarkom	13

Tabelle 15: Gesamtschau der Tumorentitäten

Tumorentität	Anzahl (n)	Tumorentität	Anzahl (n)
Analkarzinom	18	Merkelzell-Karzinom	6
Angiosarkom	7	Mucoepidermoid-Karzinom	46
Astrozytom	48	Mundbodenkarzinom	54
Basaliom	67	Nebennierenrinden-Adenom	21
Basalzelladenom Speicheldrüse	37	Nebennierenrinden-Karzinom	8
Benigne Naevi	59	Neuroblastom	51
Chondrosarkom	5	Neurofibrom	60
Colon, hochgradige Dysplasie	40	Nicht-Seminom	45
Colon, geringgradige Dysplasie	56	Nichtkleinzelliges Bronchialkarzinom	14
Colon, Adenokarzinom	60	Nierenzellkarzinom, chromophob	56
Dermatofibrosarkom protuberans	5	Nierenzellkarzinom, colibri	9
Desmoid	9	Nierenzellkarzinom, klarzellig	68
Dünndarmkarzinom	22	Nierenzellkarzinom, papillär	31
Endometrium, endometroides Karzinom	60	Non-Hodkin-Lymphom	9
Endometrium, seröses Karzinom	58	Ösophagus, Adenokarzinom	60
Ependymom	10	Ösophagus, Plattenepithelkarzinom	60
GIST	46	Oligodendrogliom	28
Gallenblasen-Karzinom	30	Onkozytom	62
Granularzelltumor	8	Ovar, Brenner'scher Tumor	45
Grosszelliges Bronchialkarzinom	48	Ovarialkarzinom, endometroid	22
Hepatozelluläres Karzinom	55	Ovarialkarzinom, muzinös	46
Haut, Plattenepithel-Ca	51	Ovarialkarzinom, serös	63
Hodgkin Lymphom	43	Pankreas, Adenokarzinom Papille	29
Hämangioperizytom	7	Pankreas, duktales Adenokarzinom	56
Karzinoide	40	Pankreas, neuroendokrines Karzinom	20
Karzinom	38	Paragangliom	36
Kleinzelliges Bronchialkarzinom	15	Peniskarzinom	46
Larynx, Plattenepithelkarzinom	57	Phäochromozytom	64
Leiomyom	27	Pilomatrixom	48
Leiomyosarkom	28	Pleomorphes Adenom (Parotis)	61
Liposarkome	16	Prostatakarzinom	63
Lunge, Adenokarzinom	71	Riesenzell-Sehnenscheiden-Tumor	40
Lunge, Plattenepithelkarzinom	59	Schilddrüsen-Adenom	65
Lunge, bronchioalveoläres Karzinom	15	Schilddrüsenkarzinom, anaplastisch	3
Lymphoepitheliales Karzinom	5	Schilddrüsenkarzinom, follikulär	47
Magenkarzinom, diffus	56	Schilddrüsenkarzinom, medullär	28
Magenkarzinom, intestinal	62	Schilddrüsenkarzinom, papillär	54
Malignes Melanom	37	Seminom	92
Malignes Mesotheliom	28	Stromasarkom Uterus	13
Malignes fibröses Histiocytom	25	Teratom	60
Malignes Schwannom	14	Thymom	57
Mammakarzinom, apokrin	17	Urothelkarzinom, Colibri	10
Mammakarzinom, duktal	62	Urothelkarzinom, (T2-4)	60
Mammakarzinom, kribriform	26	Urothelkarzinom, (Ta)	62
Mammakarzinom, lobulär	65	Vagina, Plattenepithelkarzinom	22
Mammakarzinom, medullär	64	Vulva, Plattenepithelkarzinom	61
Mammakarzinom, muzinös	61	Warthin Tumor	57
Mammakarzinom, phylloid	48	Zervix, Adenokarzinom	48
Mammakarzinom, tubulär	60	Zervix, Plattenepithelkarzinom	63
Medulloblastom	4	Zervix, adenosquamös	3
		Total	3981



2.1.2 Pankreas Prognose TMA

Der Pankreasarray besteht aus einem Paraffinblock in den 324 Gewebeproben in Form von 0,6mm durchmessenden Gewebezylindern eingebracht wurden.

Diese Gewebeproben setzen sich aus 256 primären Pankreastumoren und einem Kontrollbereich, bestehend aus 68 Gewebeproben, zusammen. Der Kontrollbereich enthält 40 Tumoren von Lunge, Mamma, Colon und Prostata, 10 gesunde Pankreasgewebe und 18 verschiedene andere gesunde Gewebe und wird für immunhistochemische Färbungen zur Qualitätskontrolle genutzt.

Alle Proben der für diesen Array verwendeten Primärtumoren wurden 256 Patienten, welche sich einer Pankreatektomie in der Allgemein-, Viszeral- und Thoraxchirurgie des Universitätsklinikums Hamburg Eppendorf unterzogen, in einem Zeitraum zwischen 1993 und 2005, entnommen.

Die Patienten hatten zum Zeitpunkt der Resektion ein mittleres Alter von 64 Jahren (mit einer Spannweite zwischen 33 und 90 Jahren).

Die Überlebensdaten der Patienten wurden von der Allgemein-, Viszeral- und Thoraxchirurgie des Klinikums Hamburg Eppendorf durch regelmäßig dokumentierte Nachuntersuchungen, generiert. Die Patienten wurden in einem mittleren Zeitraum von 19 Monaten nachuntersucht (zwischen 1 und 109 Monaten).

Das für den Array verwendete Material wurde Formalin fixiert und in Paraffin eingebettet. Die Schnitte aller Tumoren wurden von zwei Pathologen nach einheitlichen Kriterien beurteilt und entsprechend ihres histologischen Typs sowie Differenzierungsgrades, eingeteilt. Das Tumorstadium sowie der Nodal- und Metastasenstatus entsprechend der UICC- und WHO Klassifikationen, wurde den Befunden des Institutes für Pathologie des Universitätsklinikum Hamburg Eppendorf, entnommen. Die Tabelle 16 zeigt eine Übersicht über die Zusammensetzung des TMA.

Tabelle 16: TMA Zusammensetzung Pankreaskarzinom

	Alle Pankreaskarzinome		n=256
Pankreaskarzinome	Histologie	Adenokarzinom	234
		Muzinöses Adenokarzinom	15
		Adenosquamöses Karzinom	7
	Tumorstadium	pT1	6
		pT2	53
		pT3	178
		pT4	15
		Keine Angabe	4
	Nodalstatus	pN0	93
		pN1	157
pN2		1	
Keine Angabe		5	
Metastasenstatus	Keine Angabe	256	
Histologischer Differenzierungsgrad	G1	15	
	G2	122	
	G3	115	
	Keine Angabe	4	
Verfügbare Überlebensdaten		160	
Kontrollen		68	

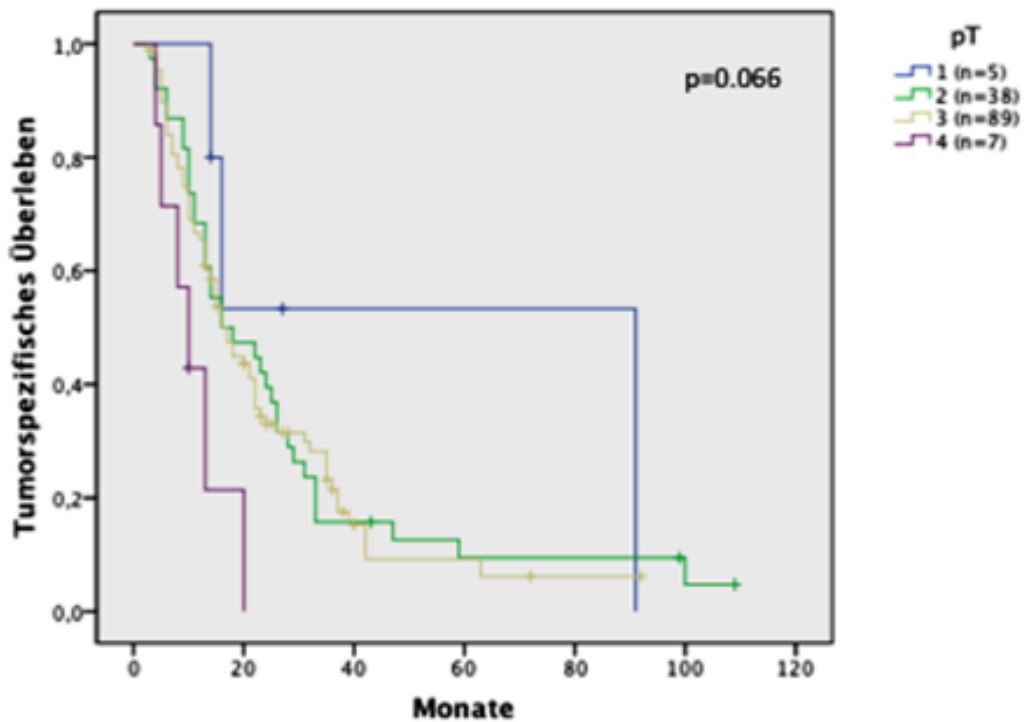


Abbildung 3: Auswirkungen des Tumorstadiums auf die Prognose des Pankreaskarzinoms

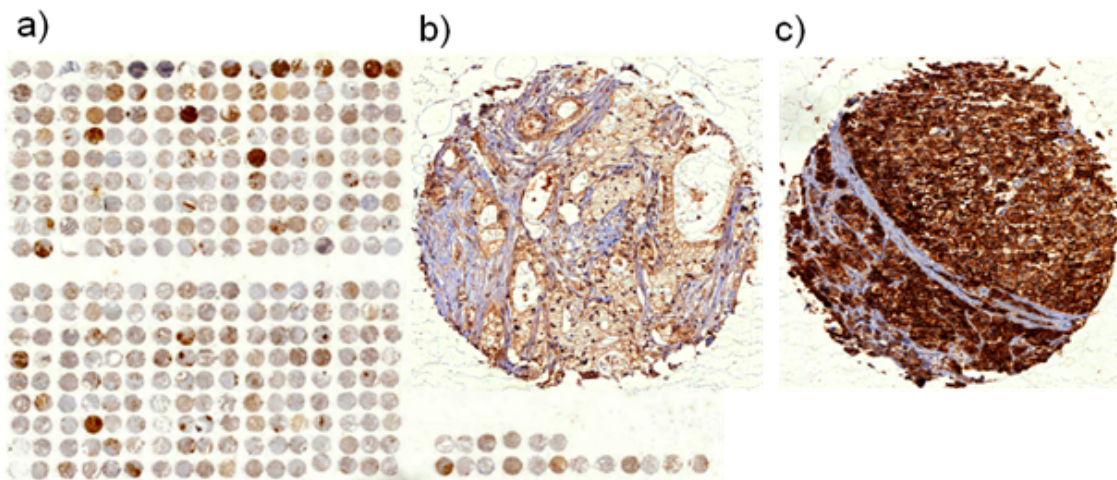


Abbildung 4: TMA Pankreaskarzinom

- a) Übersicht über einen Panreaskarzinom-Array, (HE-Übersicht). Der Array besteht aus 3 Blöcken. Jeder Spot hat einen Durchmesser von 0,6mm.
- b) Einzelner vergrößerter Gewebespot, NrCAM negativ.
- c) Einzelner vergrößerter Gewebespot, NrCAM positiv.

2.1.3 Esophagus Prognose TMA

Der Ösophagusarray besteht aus einem Paraffinblock in den 560 Gewebeproben in Form von 0,6mm durchmessenden Gewebezylindern eingebracht wurden.

Diese Gewebeproben setzen sich aus 299 primären Ösophagustumoren, 146 dazugehörigen Lymphknoten-, 47 Fernmetastasen und einem Kontrollbereich, bestehend aus 68 Gewebeproben, zusammen. Der Kontrollbereich enthält 40 Tumoren anderer Organe, 10 gesunde Ösophagusgewebe und 18 verschiedene andere gesunde Gewebe und wird für immunhistochemische Färbungen zur Qualitätskontrolle genutzt.

Alle Proben der für diesen Array verwendeten Primärtumoren und zugehörigen Metastasen wurden 299 Patienten, welche sich einer Ösophagektomie in der Allgemein-, Viszeral- und Thoraxchirurgie des Universitätsklinikums Hamburg Eppendorf unterzogen, in einem Zeitraum zwischen 1992 und 2004, entnommen. (Bei einem Patienten wurde eine alleinige Mukosektomie vorgenommen).

Die Patienten hatten zum Zeitpunkt der Resektion ein mittleres Alter von 62 Jahren (mit einer Spannweite zwischen 34 und 92 Jahren).

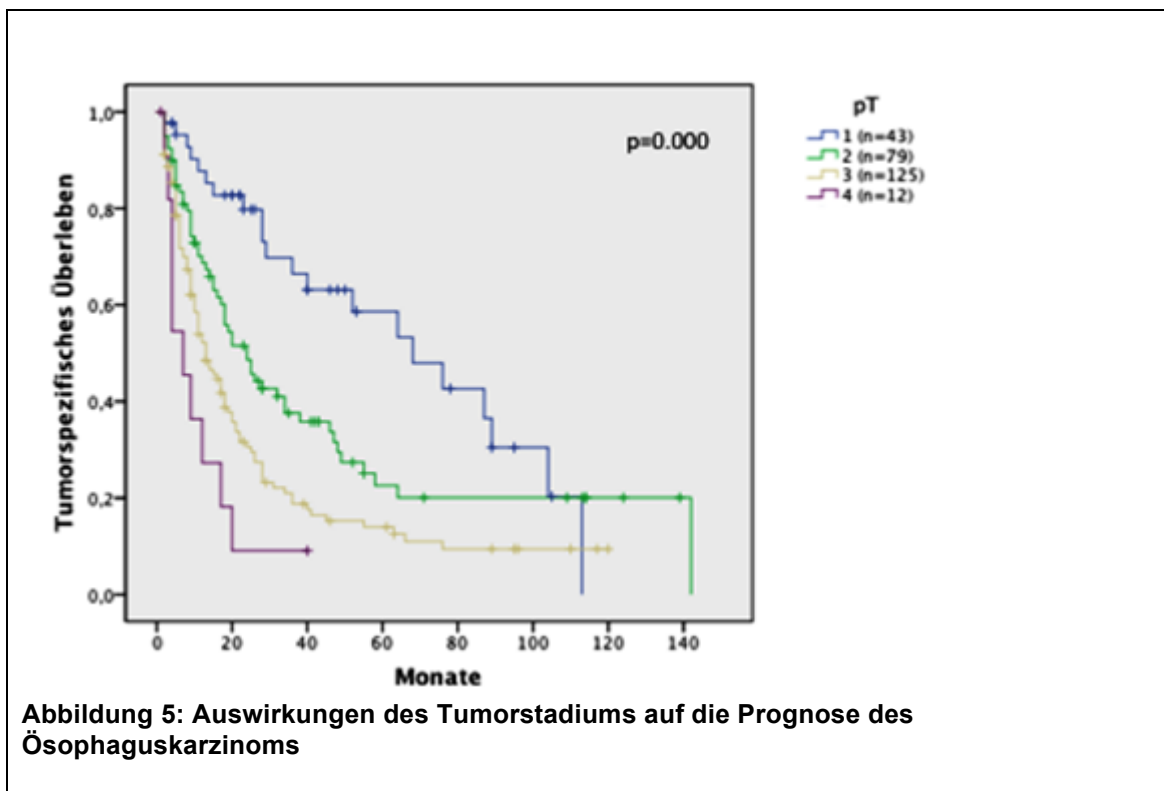
Die Überlebensdaten der Patienten wurden von der Allgemein-, Viszeral- und Thoraxchirurgie des Klinikums Hamburg Eppendorf durch regelmäßig dokumentierte Nachuntersuchungen, generiert. Die Patienten wurden in einem mittleren Zeitraum von 23 Monaten nachuntersucht (zwischen 1 und 142 Monaten).

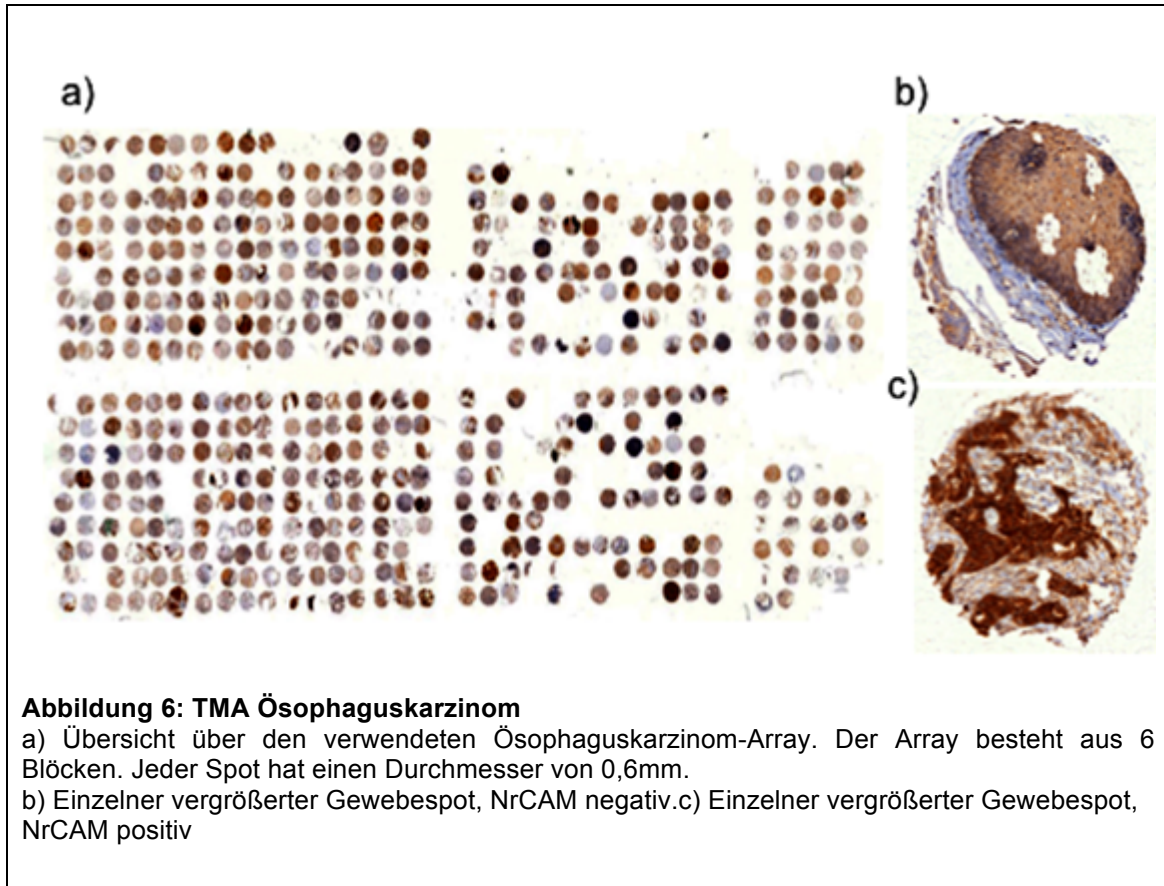
Das für den Array verwendete Material wurde Formalin fixiert und in Paraffin eingebettet. Die Schnitte aller Tumoren wurden von zwei Pathologen nach einheitlichen Kriterien beurteilt und entsprechend ihres histologischen Typs sowie Differenzierungsgrades, eingeteilt. Das Tumorstadium sowie der Nodal- und Metastasenstatus entsprechend der UICC- und WHO Klassifikationen, wurde den Befunden des Institutes für Pathologie des Universitätsklinikum Hamburg Eppendorf, entnommen.

Die Tabelle 17 zeigt eine Übersicht über die Zusammensetzung des TMA.

Tabelle 17: TMA Zusammensetzung Ösophaguskarzinom

Alle Ösophagustumoren		n=299	
Ösophaguskarzinome	Histologie	Adenokarzinom	130
		Plattenepithelkarzinom	163
		Adenosquamöses Karzinom	6
	Tumorstadium	pT1	47
		pT2	85
		pT3	150
		pT4	15
	Keine Angabe		2
	Nodalstatus	pN0	103
		pN1	195
Keine Angabe		1	
Metastasenstatus	pM0	244	
	pM1	54	
	Keine Angabe		1
Histologischer Differenzierungsgrad	G1	5	
	G2	166	
	G3	126	
	Keine Angabe		2
Verfügbare Überlebensdaten		294	
Kontrollen		68	





2.2 Immunhistochemie

2.2.1 Protokoll

Es wurden 4 μm dicke Schnitte der TMA-Blöcke angefertigt und auf einen Objektträger aufgebracht. Diese Objektträger wurden mindestens eine Stunde in Xylol, anschließend in absteigender Alkoholreihe (Isopropylalkohol 100%, Ethanol 96%, Ethanol 70%) bis zu destilliertem Wasser entparaffiniert. Zum Abschluss der Objektträgervorbereitung wurden die TMA-Schnitte 5 Minuten in TBST-Puffer (Tris gepufferte Kochsalzlösung Tween) abgewaschen.

Für die vorliegende Arbeit wurde der polyklonale, in Ziegen produzierte NrCAM-Antikörper (R&D Systems®, Inc., Minneapolis) verwendet.

Die Schnitte wurden 5 Minuten in Target retrieval solution pH 9, 1:10 (DAKO) autoclaviert und anschließend 5 Minuten in TBST-Puffer gespült. Zur Verhinderung falsch positiver Ergebnisse wurde die endogene Peroxidase mit

1%igem Wasserstoffperoxid in Methanol für 10 Minuten blockiert und anschließend 2 Mal je 5 Minuten in TBST-Puffer gespült.

Im nächsten Schritt wurden die Objektträger mit dem Antikörper in einer Verdünnung von 1:450 in Antibody diluent solution (DAKO) für 2 Stunden bei 30°C inkubiert. Der Antikörper wurde dann in einem Waschgang (jeweils 2 x 5 Minuten) mit TBST-Puffer entfernt.

Nachfolgend wurde für die erforderliche Brücke der Antikörper Mouse anti Goat der Firma Dianova mit einer Verdünnung von 1:200 in Antibody diluent solution (DAKO) zunächst 30 Sekunden abzentrifugiert und dann auf die Objektträger aufgebracht. Dann erst wurde die Inkubation bei 30°C für 30 Minuten sowie das erneute Waschen für 2 x 5 Minuten in TBST-Puffer vorgenommen.

Darauf folgte die Inkubation bei 30°C mit dem EnVision Polymer-HRP Rabbit/Mouse (DAKO K5007) für 30 Minuten.

Danach wurden die Objektträger bei Raumtemperatur für 10 Minuten mit DAB-Chromogen (DAKO K5007) inkubiert. Sowohl vor als auch nach der Inkubation wurden die Objektträger mit destilliertem Wasser für je 5 Minuten gespült. Abschließend folgten eine einminütige Applikation von Haemalaun, ein fünfminütiges Bläuen mit Leitungswasser, ein Entwässern über die aufsteigende Alkoholreihe bis Xylol sowie das Eindeckeln der Objektträger.

2.2.2 Auswertung

Um eine maximale Standardisierung der Auswertung zu garantieren, wurden die fertigen Objektträger (TMA's) jeweils unmittelbar nach Abschluss des Färbeprozesses mit dem Mikroskop ausgewertet.

Dabei wurde die Anzahl der angefärbten Zellen so wie die Intensität der immunhistochemischen Anfärbung beurteilt. Spots, in denen keine membranständige Reaktion zu verzeichnen war, galten dabei als negativ. Die Anzahl der angefärbten Zellen wurde in Prozent, und der Grad der Intensität mit 1+, 2+ oder 3+ angegeben. Zur späteren statistischen Auswertung erfolgte die Einteilung der immunhistochemischen Reaktion auf den NrCAM Antikörper in

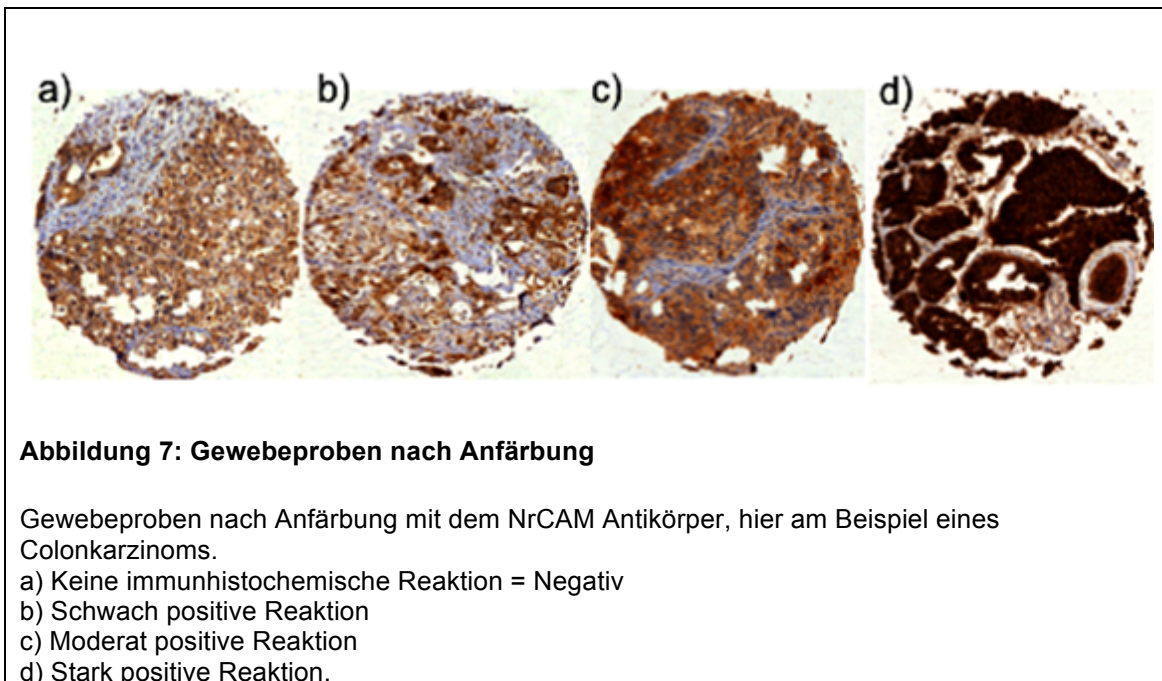
vier Kategorien nach unten aufgeführten Kriterien. Diese Einteilung entspricht den routinemäßig verwendeten Standardkriterien des Instituts für Pathologie, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf.

Tabelle 18: Auswertung immunhistochemie nach Reaktionsstärke

Kategorie	Immunhistochemische Reaktion
• Negativ	Keine Färbung
• Schwach	Reaktion Grad 1 in zu 70% Reaktion Grad 2 in bis zu 30%
• Moderat	Reaktion Grad 1 in mehr als 70% Reaktion Grad 2 in mehr als 30 bis zu 70% Reaktion Grad 3 in bis zu 30%
• Stark	Reaktion Grad 2 in mehr als 70% Reaktion Grad 3 in mehr als 30%

Erfolgt eine gröbere Einteilung, wie z.B. lediglich in Positiv und Negativ, wird die Grenze bei einer Reaktion in 10% der Zellen mit dem Intensitätsgrad 2 gezogen. Alles unter dieser Grenze gilt als negativ, alles darüber als positiv.

In Einzelfällen können auch andere Gruppierungen verwendet werden, um etwaige statistische Signifikanz aufzuzeigen. Dies wird dann im Ergebnisteil gesondert aufgeführt.



2.3 Statistik

Um den Zusammenhang zwischen histologischem Tumortyp, Grad des Tumors, „Staging“ und Genamplifikationen darzustellen, wurden die „Contingency table analysis“ und der Chi-Quadrat-Test angewandt. Die Berechnung der Überlebenskurven erfolgte nach Kaplan-Meier. Der Log-rank-Test wurde angewandt, um den Zusammenhang zwischen Proteinexpression und Patientenüberleben zu untersuchen. Mit Hilfe der Cox Regression wurden die Abhängigkeiten der analysierten Variablen untereinander in Relation zum Patientenüberleben gesetzt.

3 Ergebnisse

3.1 NRCAM Expression in humanen Tumoren

Von den 3981 Tumoren des Multi-Tumor Arrays konnten 3483 (87,5%) erfolgreich mittels Immunhistochemie analysiert werden. 495 Spots waren nicht auswertbar, weil entweder der Gewebespot vom TMA während der Vorbereitung des Objektträgers abgeschwommen ist, oder weil im betreffenden Gewebespot kein Tumormaterial getroffen war.

Eine positive Reaktion auf den NrCAM Antikörper gemäß der vordefinierten Kriterien (siehe 2.2.2) wurde bei 76 (76%) Tumorentitäten nachgewiesen. Bei 24 (24%) Entitäten konnte keine NrCAM-Expression nachgewiesen werden. Eine deutliche Positivität für NrCAM zeigte sich vornehmlich bei Tumoren neuronaler Herkunft. Tabelle 19 zeigt die genaue Verteilung der NrCAM Expression.

Tabelle 19: NRCAM-Expression in den verschiedenen Tumortypen des Multi-Tumor-Arrays

Tumore des ZNS						
Tumorentität	Anzahl (n)	Auswertbar (n)	Negativ %	Schwach %	Moderat %	Stark %
Astrozytom	48	39	5,1	2,6	0,0	92,3
Ependyom	10	10	0,0	0,0	0,0	100,0
Medulloblastom	4	4	25,0	0,0	0,0	75,0
Neuroblastom	51	51	2,0	2,0	2,0	94,1
Oligodendrogliom	28	25	0,0	0,0	0,0	100,0

Tumore der Kopf- / Halsregion						
Tumorentität	Anzahl (n)	Auswertbar (n)	Negativ %	Schwach %	Moderat %	Stark %
Lymphoepitheliales Karzinom Speicheldrüse	5	4	100,0	0,0	0,0	0,0
Pleomorphes Adenom (Parotis)	61	56	14,3	7,1	41,1	37,5
Basalzelladenom Speicheldrüse	37	32	25,0	21,9	12,5	40,6
Mucoepidermoid-Karzinom Speicheldrüse	46	20	55,0	20,0	20,0	5,0
Warthin Tumor Speicheldrüse	57	51	82,4	11,8	3,9	2,0

Tumore der Atemwege						
Tumorentität	Anzahl (n)	Auswertbar (n)	Negativ %	Schwach %	Moderat %	Stark %
Larynx, Plattenepithelkarzinom	57	52	94,2	0,0	0,0	5,8
Mundbodenkarzinom	54	46	87,0	4,3	4,3	4,3

Ergebnisse

Tumore der Atemwege						
Tumorentität	Anzahl (n)	Auswertbar (n)	Negativ %	Schwach %	Moderat %	Stark %
Grosszelliges Bronchialkarzinom	48	45	75,6	2,2	11,1	11,1
Kleinzelliges Bronchialkarzinom	15	13	23,1	23,1	46,2	7,7
Lunge, Adenokarzinom	71	68	97,1	1,5	0,0	1,5
Lunge, Plattenepithelkarzinom	59	57	87,7	3,5	7,0	1,8
Lunge, bronchioalveoläres Karzinom	15	13	100,0	0,0	0,0	0,0
Nichtkleinzelliges Bronchialkarzinom	14	8	87,5	0,0	0,0	12,5
Malignes Mesotheliom	28	26	100,0	0,0	0,0	0,0

Tumore endokriner Organe						
Tumorentität	Anzahl (n)	Auswertbar (n)	Negativ %	Schwach %	Moderat %	Stark %
Karzinoide	40	33	15,2	12,1	3,0	69,7
Nebennierenrinden-Adenom	21	20	10,0	0,0	0,0	90,0
Nebennierenrinden-Karzinom	8	7	100,0	0,0	0,0	0,0
Phäochromozytom	64	61	3,3	4,9	14,8	77,0
Onkozytom	62	50	76	12	4	8
Schilddrüsen-Adenom	65	62	53,2	17,7	11,3	17,7
Schilddrüsenkarzinom, anaplastisch	3	3	66,7	0,0	0,0	33,3
Schilddrüsenkarzinom, follikulär	47	42	16,7	23,8	33,3	26,2
Schilddrüsenkarzinom, medullär	28	25	36,0	20,0	8,0	36,0
Schilddrüsenkarzinom, papillär	54	48	18,8	14,6	18,8	47,9
Paragangliom	36	33	12,1	3,0	15,2	69,7

Gastrointestinale Tumore						
Tumorentität	Anzahl (n)	Auswertbar (n)	Negativ %	Schwach %	Moderat %	Stark %
Oesophagus, Plattenepithelkarzinom	60	59	94,9	3,4	5,1	0,0
Oesophagus, Adenokarzinom	60	55	87,3	3,6	1,8	7,3
Magenkarzinom, diffus	56	51	98,0	2,0	0,0	0,0
Magenkarzinom, intestinal	62	50	88,0	4,0	2,0	6,0
Dünndarmkarzinom	22	22	100,0	0,0	0,0	0,0
GIST	46	45	77,8	4,4	11,1	6,7
Gallenblasen-Karzinom	30	28	82,1	7,1	3,6	7,1
Hepatozelluläres Karzinom	55	52	53,8	15,4	25,0	5,8
Pankreas, Adenokarzinom Papille	29	28	82,1	10,7	0,0	7,1
Pankreas, duktales Adenokarzinom	56	53	88,7	1,9	3,8	5,7
Pankreas, neuroendokrines Karzinom	20	17	5,9	11,8	35,3	47,1
Colon, geringgradige Dysplasie	56	47	87,2	6,4	4,3	2,1

Ergebnisse

Gastrointestinale Tumore						
Tumorentität	Anzahl (n)	Auswertbar (n)	Negativ %	Schwach %	Moderat %	Stark %
Colon, hochgradige Dysplasie	40	33	84,8	15,2	0,0	0,0
Colon, Adenokarzinom	60	59	89,8	1,7	1,7	6,8
Analkarzinom	18	14	100,0	0,0	0,0	0,0

Urogenitale Tumore						
Tumorentität	Anzahl (n)	Auswertbar (n)	Negativ %	Schwach %	Moderat %	Stark %
Nierenzellkarzinom, chromophob	56	48	29,2	27,1	16,7	27,1
Nierenzellkarzinom, klarzellig	68	62	66,1	22,6	4,8	6,5
Nierenzellkarzinom, papillär	31	26	65,4	7,7	15,4	11,5
Nierenzellkarzinom, colibri	9	8	75	0	0	0
Urothelkarzinom, (Ta)	62	60	98,3	0	1,7	0
Urothelkarzinom, (T2-4)	60	58	86,2	6,9	1,7	5,2
Urothelkarzinom, Colibri	10	10	70	0	10	20
Peniskarzinom	46	36	94,4	5,6	0	0
Prostatakarzinom	63	61	60,7	8,2	6,6	24,6
Teratom	60	40	62,5	5,0	7,5	22,5
Seminom	92	87	17,2	11,5	16,1	55,2
Nicht-Seminom	45	38	57,9	13,2	13,2	15,8

Gynäkologische Tumore						
Tumorentität	Anzahl (n)	Auswertbar (n)	Negativ %	Schwach %	Moderat %	Stark %
Endometrium, endometrioides Karzinom	60	59	30,5	11,9	23,7	33,9
Endometrium, seröses Karzinom	58	44	61,4	20,5	9,1	9,1
Ovar, Brenner'scher Tumor	45	36	77,8	8,3	8,3	5,6
Ovarialkarzinom, endometroid	22	21	42,9	14,3	28,6	14,3
Ovarialkarzinom, muzinös	46	41	73,2	14,6	7,3	4,9
Ovarialkarzinom, serös	63	60	45,0	16,7	21,7	16,7
Vagina, Plattenepithelkarzinom	22	16	93,8	0,0	0,0	6,3
Vulva, Plattenepithelkarzinom	61	59	100,0	0,0	0,0	0,0
Zervix, Adenokarzinom	48	42	76,2	9,5	9,5	4,8
Zervix, adenosquamös	3	3	100,0	0,0	0,0	0,0
Zervix, Plattenepithelkarzinom	63	62	95,2	1,6	3,2	0,0
Mammakarzinom, apokrin	17	16	62,5	25,0	12,5	0,0
Mammakarzinom, duktal	62	58	69,0	17,2	10,3	3,4
Mammakarzinom, kribriform	26	21	85,7	4,8	0,0	9,5
Mammakarzinom, lobulär	65	48	72,9	16,7	8,3	2,1
Mammakarzinom, medullär	64	55	89,1	7,3	1,8	1,8
Mammakarzinom, muzinös	61	53	52,8	28,3	13,2	5,7
Mammakarzinom, phylloid	48	45	66,7	20,0	13,3	0,0
Mammakarzinom, tubulär	60	51	94,1	3,9	2,0	0,0
Stromasarkom des Uterus	13	11	45,5	9,1	18,2	27,3

Tumore der Haut						
Tumorentität	Anzahl (n)	Auswertbar (n)	Negativ %	Schwach %	Moderat %	Stark %
Benigne Naevi	59	27	33,3	11,1	7,4	48,1
Basaliom	67	44	95,5	4,5	0,0	0,0
Haut, Plattenepithel-Ca	51	43	95,3	0,0	4,7	2,3
Malignes Melanom	37	27	85,2	0,0	0,0	14,8
Merkelzell-Karzinom	6	4	75,0	0,0	0,0	25,0
Pilomatrixom	48	29	86,2	0,0	13,8	0,0

Knochtumore						
Tumorentität	Anzahl (n)	Auswertbar (n)	Negativ %	Schwach %	Moderat %	Stark %
Chondrosarkom	5	4	100,0	0,0	0,0	0,0

Hämatologische Neoplasien						
Tumorentität	Anzahl (n)	Auswertbar (n)	Negativ %	Schwach %	Moderat %	Stark %
Hodgkin Lymphom	43	41	97,6	2,4	0,0	0,0
Non-Hodkin Lymphom	9	9	100,0	0,0	0,0	0,0
Thymom	57	51	41,2	15,7	21,6	21,6

Weichgewebstumore						
Tumorentität	Anzahl (n)	Auswertbar (n)	Negativ %	Schwach %	Moderat %	Stark %
Angiosarkom	7	6	100,0	0,0	0,0	0,0
Dermatofibrosarkom protuberans	5	5	100,0	0,0	0,0	0,0
Desmoid Tumor	9	9	100,0	0,0	0,0	0,0
Granularzelltumor	8	7	0,0	14,3	71,4	14,3
Hämangioperizytom	7	7	100,0	0,0	0,0	0,0
Leiomyom	27	23	100,0	0,0	0,0	0,0
Leiomyosarkom	28	28	100,0	0,0	0,0	0,0
Liposarkome	16	15	93,3	6,7	0,0	0,0
Karzinosarkom	38	36	36,1	25,0	19,4	19,4
Malignes fibröses Histiozytom	25	23	100,0	0,0	0,0	0,0
Neurofibrom	60	43	95,3	0,0	2,3	2,3
Malignes Schwannom	14	14	92,9	0,0	0,0	7,1
Riesenzell-Sehnenscheiden-Tumor	40	36	100,0	0,0	0,0	0,0
Total	3981	3483				

3.2 NrCAM Expression im Pankreaskarzinom

Von den 256 primären Pankreaskarzinomen des TMA konnten 253 (98.8%) erfolgreich immunhistochemisch ausgewertet werden. 3 (2.1%) waren nicht auswertbar, weil der Gewebespot während der Analyse vom TMA abgeschwommen ist (n=1) oder in betreffendem Spot kein Tumormaterial getroffen war (n=2).

Von den 253 analysierbaren Tumoren zeigten 61 (24.1%) eine Reaktion gemäß der vordefinierten Kriterien (siehe 2.2.2), während 192 (75.9%) keine immunhistochemische Reaktion aufwiesen. Teilt man die Tumoren gemäß der in Kapitel 2.2.2 definierten Kriterien in Negativ und Positiv ein, so zeigen 48 (19.0%) Pankreaskarzinome eine Expression von NrCAM.

Geschlecht und Alter haben keinen Einfluss auf die NrCAM Expression ($p=0.931$ und $p=0.082$). Es fand sich auch keine Korrelation zwischen der NrCAM Expression und dem Vorhandensein einer penineuralen Tumorinvasion ($p=0.890$), einer Angioinvasion ($p=0.672$), von Mirometastasen in Lymphknoten ($p=0.589$) oder von Mikrometastasen im Knochenmark ($p=0.863$). Die Abbildung 8 zeigt die Verteilung der NrCAM Expression.

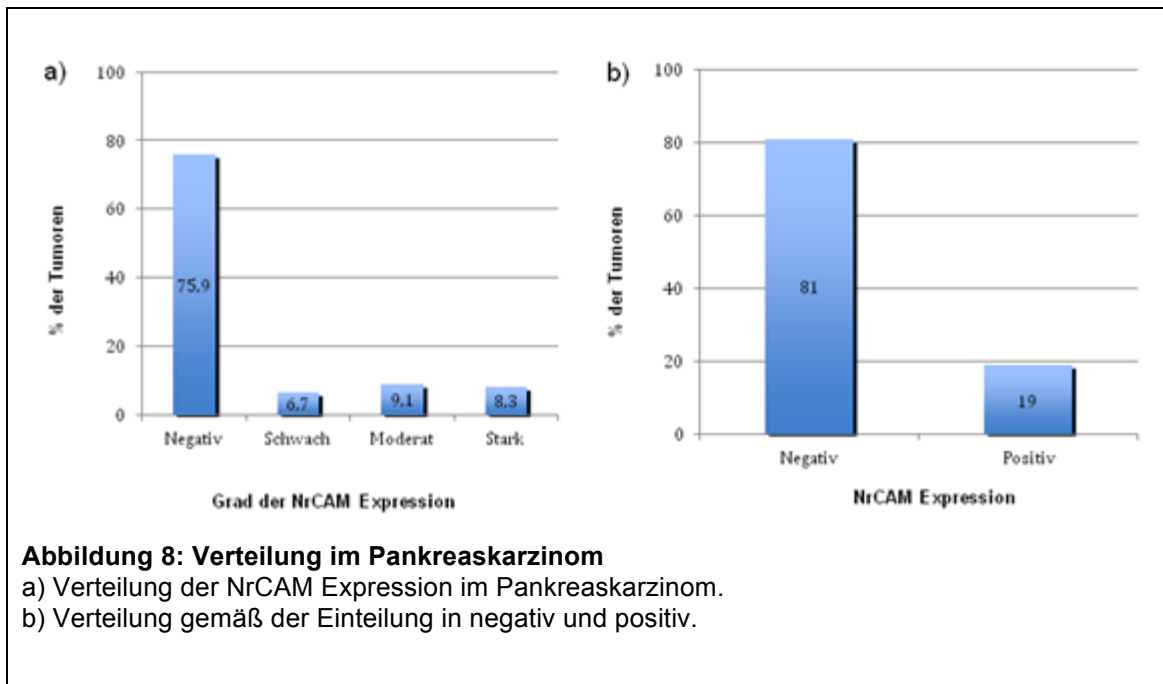


Abbildung 8: Verteilung im Pankreaskarzinom

a) Verteilung der NrCAM Expression im Pankreaskarzinom.

b) Verteilung gemäß der Einteilung in negativ und positiv.

3.2.1 Assoziation zum Tumorphänotyp

Abhängig vom pT-Stadium zeigt sich eine mit der Tumorausdehnung abnehmende Häufigkeit der NrCAM-Expression, welche nicht statistisch signifikant ist ($p=0.575$). Dieser Trend ist nach Gruppierung der NrCAM Expression in Negativ und Positiv allerdings weniger deutlich ($p=0.719$). Die Daten sind in Tabelle 20 und Tabelle 21 dargestellt.

Tabelle 20: Assoziation von pT-Stadium und NrCAM Expression

pT-Stadium	n	NrCAM Expression				p
		Negativ	Schwach	Moderat	Stark	
1	6	66.7%	0.0%	0.0%	33.3%	0.575
2	53	77.4%	7.5%	9.4%	5.7%	
3	175	74.3%	7.4%	9.7%	8.6%	
4	15	86.7%	0.0%	6.7%	6.7%	

Tabelle 21: Assoziation von pT-Stadium und NrCAM Expression gruppiert

pT-Stadium	n	NrCAM Expression gruppiert		p
		Negativ	Positiv	
1	6	66.6%	33.3%	0.719
2	53	83.0%	17.0%	
3	175	80.0%	20.0%	
4	15	86.7%	13.3%	

Auch auf die lymphogene Metastasierung (pN) hat NrCAM keinen Einfluss, weder unter Berücksichtigung aller Expressionsgrade noch bei Gruppierung in negative und positive Reaktion (p=0.505 und 0.446). Das Selbe gilt ebenso für die hämatogene Metastasierung (pM) (p=0.960 und p=1.0) und den Differenzierungsgrad (G) (p=0.810 und p=0.827).

Alle Daten sind ausführlich in Tabelle 22 dargestellt.

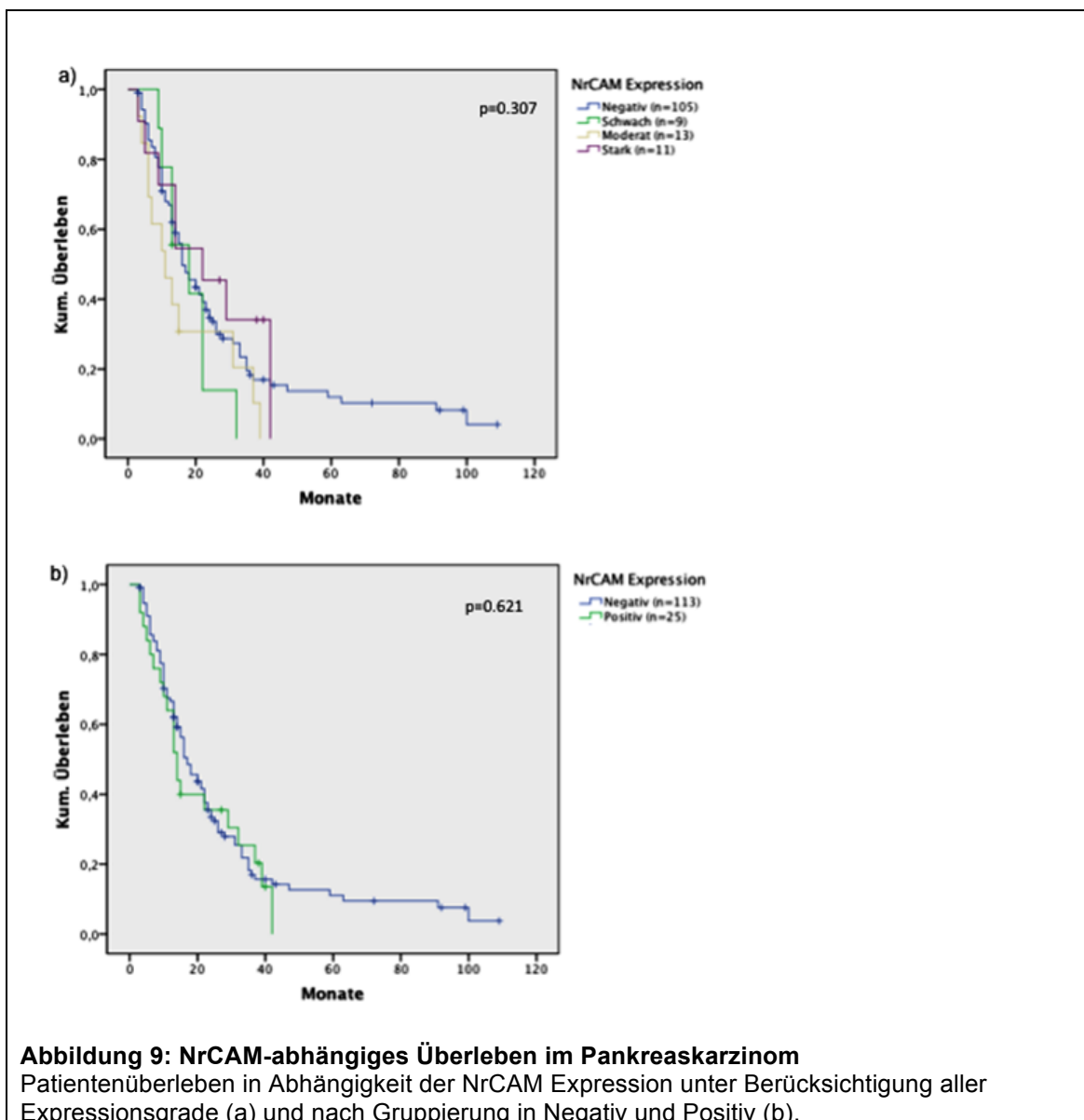
Tabelle 22: Assoziation von NrCAM Expression und Pankreaskarzinom-Phänotyp

	n	NrCAM Expression				p
		Negativ	Schwach	Moderat	Stark	
Alle Tumoren	253	75.5%	6.8%	9.2%	8.4%	
pT1	6	66.7%	0.0%	0.0%	33.3%	0.575
pT2	53	77.4%	7.5%	9.4%	5.7%	
pT3	175	74.3%	7.4%	9.7%	8.6%	
pT4	15	86.7%	0.0%	6.7%	6.7%	
pN0	93	72.0%	4.3%	9.7%	14.0%	0.505
pN1	154	77.3%	8.4%	9.1%	5.2%	
pN2	1	100.0%	0.0%	0.0%	0.0%	
pM0	1	100.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.960
pM1	17	76.5%	5.6%	11.1%	5.6%	
G1	15	73.3%	13.3%	6.7%	6.7%	0.810
G2	120	74.2%	8.3%	8.3%	9.2%	
G3	114	77.2%	4.4%	10.5%	7.9%	

3.2.2 Assoziation zur Patientenprognose

Zur Überlebensanalyse standen 138 der 253 auswertbaren Tumore zur Verfügung. 17 Patienten welche perioperativ verstorben waren, wurden von der Analyse ausgeschlossen, für die anderen Tumore lagen keine Überlebensdaten vor.

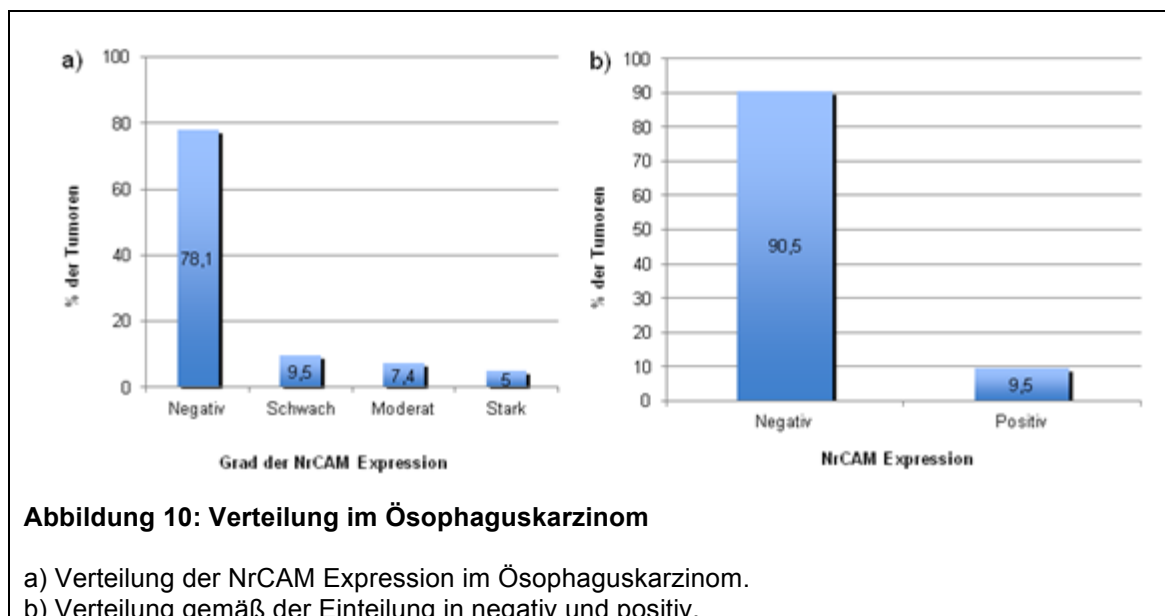
Bei der Betrachtung des Patientenüberlebens konnte kein signifikanter Zusammenhang mit dem Grad der NrCAM Expression gefunden werden, auch wenn lediglich Negativität mit Positivität verglichen wurde (Abbildung 9)



3.3 NrCAM Expression im Ösophaguskarzinom

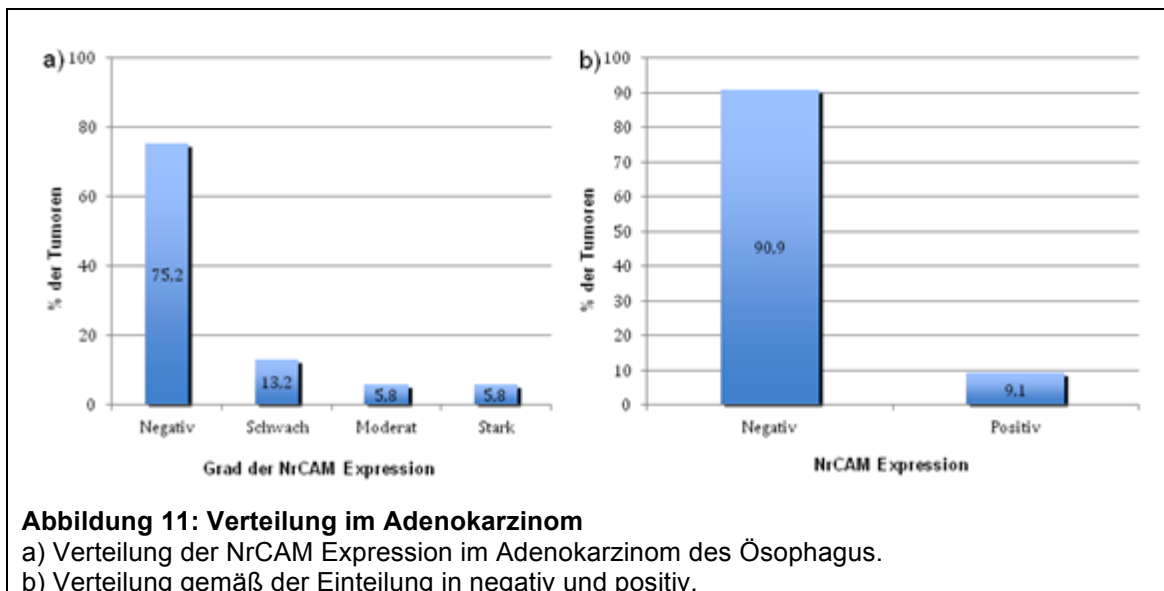
Von den 299 primären Ösophaguskarzinomen des TMA konnten 283 (94,6%) erfolgreich immunhistochemisch ausgewertet werden. 16 (5,4%) waren nicht auswertbar, weil der Gewebespot während der Analyse vom TMA abgeschwommen ist (n=14) oder in betreffendem Spot kein Tumormaterial getroffen war (n=2).

Von den 283 analysierbaren Tumoren zeigten 62 (21,9%) eine Reaktion gemäß der vordefinierten Kriterien (siehe 2.2.2), während 221 (78,1%) keine immunhistochemische Reaktion aufwiesen. Teilt man die Tumoren gemäß der in Kapitel 2.2.2 definierten Kriterien in Negativ und Positiv ein, so zeigen 27 (9,5%) Ösophaguskarzinome eine Expression von NrCAM. Gruppiert man die Patientendaten nach Alter um den Median, so zeigt sich eine signifikant häufigere starke Expression von NrCAM in höherem Alter ($p=0.03$). Dieser Effekt ist jedoch nach Gruppierung der Expression in negativ und positiv nicht mehr nachvollziehbar ($p=1.0$). Das Geschlecht hat keinen Einfluss auf die NrCAM Expression ($p=0.547$). Bei getrennter Analyse von Adeno- und Plattenepithelkarzinomen fanden sich bezüglich Alter und Geschlecht keine Unterschiede, so dass diese Daten nicht gesondert aufgeführt werden. Die Abbildung 10 zeigt die Verteilung der NrCAM Expression.



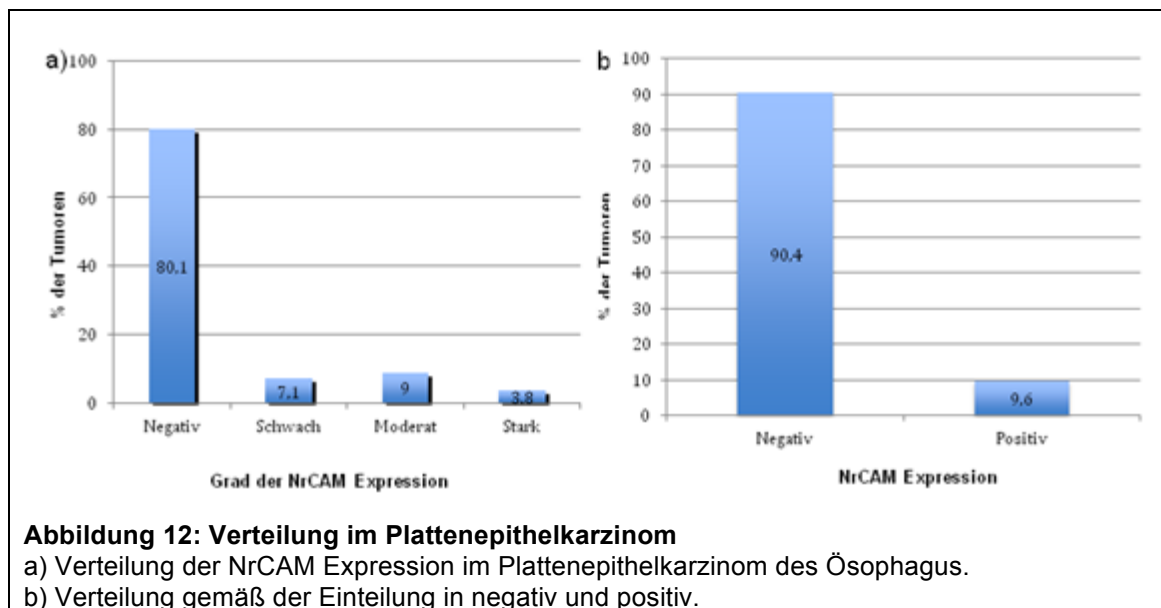
Von den 130 Adenokarzinomen des Ösophagus 121 (93,08%) erfolgreich immunhistochemisch ausgewertet werden. 7 (5,4%) waren nicht auswertbar, weil der Gewebespot während der Analyse vom TMA abgeschwommen ist (n=6) oder in betreffendem Spot kein Tumormaterial getroffen war (n=1).

Von den 121 analysierten Tumoren zeigten 30 (24,8%) eine Reaktion gemäß der vordefinierten Kriterien (siehe 2.2.2), während 91 (75,2%) keine immunhistochemische Reaktion aufwiesen. Teilt man die Tumoren gemäß der in Kapitel 2.2.2 definierten Kriterien in Negativ und Positiv ein, so zeigten 11 (9,1%) Ösophaguskarzinome eine Expression von NrCAM. Die Abbildung 11 zeigt die Verteilung der NrCAM Expression.



Von den 163 Plattenepithelkarzinomen des Ösophagus 156 (95,7%) erfolgreich immunhistochemisch ausgewertet werden. 7 (4,3%) waren nicht auswertbar, weil der Gewebespot während der Analyse vom TMA abgeschwommen ist (n=6) oder in betreffendem Spot kein Tumormaterial getroffen war (n=1).

Von den 156 analysierbaren Tumoren zeigten 31 (19,9%) eine Reaktion gemäß der vordefinierten Kriterien (siehe 2.2.2), während 125 (80,1%) keine immunhistochemische Reaktion aufwiesen. Teilt man die Tumoren gemäß der in Kapitel 2.2.2 definierten Kriterien in Negativ und Positiv ein, so zeigen 15 (9,6%) Ösophaguskarzinome eine Expression von NrCAM. Die Abbildung 12 zeigt die Verteilung der NrCAM Expression.



3.3.1 Assoziation zum Tumorphänotyp

NrCAM-Expression zeigt bezüglich des pT-Stadiums keine spezifische Verteilung, weder unter Berücksichtigung aller vier Expressionsgrade ($p=0.713$) noch bei einer Einteilung in lediglich negative und positive Reaktion ($p=0.216$).

Wenn man jedoch das pT-Stadium (pT1 und pT2 sowie pT3 und pT4) als auch die NrCAM Expression in Negativ und Positiv einteilt, zeigt sich eine abnehmende Expression von NrCAM in höheren pT-Stadien, welche jedoch keine statistische Signifikanz erreicht ($p=0.059$), siehe Tabelle 23.

Tabelle 23: Assoziation von pT-Stadium und NrCAM Expression

pT-Stadium gruppiert	NrCAM Expression %		p
	Negativ	Positiv	
1 + 2	81.1	18.9	0.059
3 + 4	89.4	10.6	

Auch auf die lymphogene Metastasierung (pN) hat NrCAM keinen Einfluss, weder unter Berücksichtigung aller Expressionsgrade noch bei Gruppierung in negative und positive Reaktion ($p=0,241$ und 0.277). Das Selbe gilt ebenso für die hämatogene Metastasierung (pM) ($p=0.503$ und $p=0.826$) und den

Differenzierungsgrad (G) ($p=0.896$ und $p=0.558$). Alle Daten sind ausführlich in Tabelle 24 dargestellt.

Tabelle 24: Assoziation von NrCAM Expression und Ösophaguskarzinom Phänotyp

	n	NrCAM Expression				p
		Negativ	Schwach	Moderat	Stark	
Alle Tumoren	283	78.1%	9.5%	7.4%	4.9%	
Adeno-Karzinom	121	75.2%	13.2%	5.8%	5.8%	
Plattenepithel-Karzinom	156	80.1%	7.1%	9.0%	3.8%	
Adeno-squamöses Karzinom	6	100.0%	0.0%	0.0%	0.0%	
pT1	46	71.1%	8.7%	13.0%	6.5%	0.713
pT2	76	75.0%	10.5%	6.6%	7.9%	
pT3	145	82.1%	9.0%	6.2%	2.8%	
pT4	15	80.0%	6.7%	6.7%	6.7%	
pN0	98	79.2%	10.4%	11.2%	5.5%	0.241
pN1	183	79.3%	8.0%	4.9%	12.7%	
pM0	230	79.6%	8.7%	7.4%	4.3%	0.503
pM1	52	71.2%	13.5%	7.7%	7.7%	
G1	5	100.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.896
G2	158	77.8%	8.9%	8.2%	5.1%	
G3	118	78.0%	11.0%	5.9%	5.1%	

Bei der getrennten Berechnung von ADC und PEC zeigte sich ein mit dem pT-Stadium abnehmende Expression in **Adenokarzinomen**. Diese erreichte zwar keine statistische Signifikanz, war jedoch auch nach Einteilung der Expression in Negativ und Positiv, sowie nach Gruppierung der Tumorstadien in pT1-2 und pT3-4 nachweisbar. Ein solcher Effekt zeigte sich mit statistischer Signifikanz auch bezüglich des Nodalstatus. Dementsprechend nimmt die NrCAM Expression in Adenokarzinomen des Ösophagus mit der lymphogenen Metastasierung ab. Die Tabelle 25 und Tabelle 26 zeigen eben genannte Daten mit errechneter statistischer Wahrscheinlichkeit. Andere Unterschiede oder Besonderheiten zwischen Adeno- und Plattenepithelkarzinomen waren nicht nachweisbar und werden aus diesem Grund nicht gesondert aufgeführt.

Tabelle 25: Assoziation von pT-Stadium und NrCAM Expression im Adenokarzinom

pT-Stadium	n	NrCAM Expression				p
		Negativ	Schwach	Moderat	Stark	
1	23	65.2%	13.0%	21.7%	0.0%	0.056
2	41	75.6%	12.2%	2.4%	9.8%	
3	53	77.4%	15.1%	1.9%	5.7%	
4	4	100.0%	0.0%	0.0%	0.0%	
pT-Stadium gruppiert	n	NrCAM Expression				p
		Negativ	Schwach	Moderat	Stark	
1 + 2	64	71.9%	12.5%	9.4%	6.3%	0.343
3 + 4	57	78.9%	14.0%	1.8%	5.3%	
pT-Stadium	n	NrCAM Expression gruppiert		p		
		Negativ	Positiv			
1	23	73.9%	26.1%	0.134		
2	41	82.9%	17.1%			
3	53	92.5%	7.5%			
4	4	100%	0.0%			
pT-Stadium gruppiert	n	NrCAM Expression gruppiert		p		
		Negativ	Positiv			
1 + 2	64	79.7%	20.3%	0.040		
3 + 4	57	93.0%	7.0%			

Tabelle 26: Assoziation von pN-Status und NrCAM Expression im Adenokarzinom

pN-Stadium	n	NrCAM Expression				p
		Negativ	Schwach	Moderat	Stark	
0	32	68.8%	9.4%	15.6%	6.3%	0.014
1	88	78.4%	14.8%	1.1%	5.7%	
pN-Stadium	n	NrCAM Expression gruppiert		p		
		Negativ	Positiv			
1	32	78.1%	21.9%	0.128		
2	88	89.8%	10.2%			

3.3.2 Assoziation zur Patientenprognose

Zur Überlebensanalyse standen 246 der 283 auswertbaren Tumore zur Verfügung. 33 Patienten welche perioperativ verstorben waren, wurden von der Analyse ausgeschlossen, für vier Tumore lagen keine Überlebensdaten vor.

Bei der Betrachtung des Patientenüberlebens konnte kein signifikanter Zusammenhang mit dem Grad der NrCAM Expression gefunden werden, auch wenn lediglich Negativität mit Positivität verglichen wurde (s. Abbildung 13).

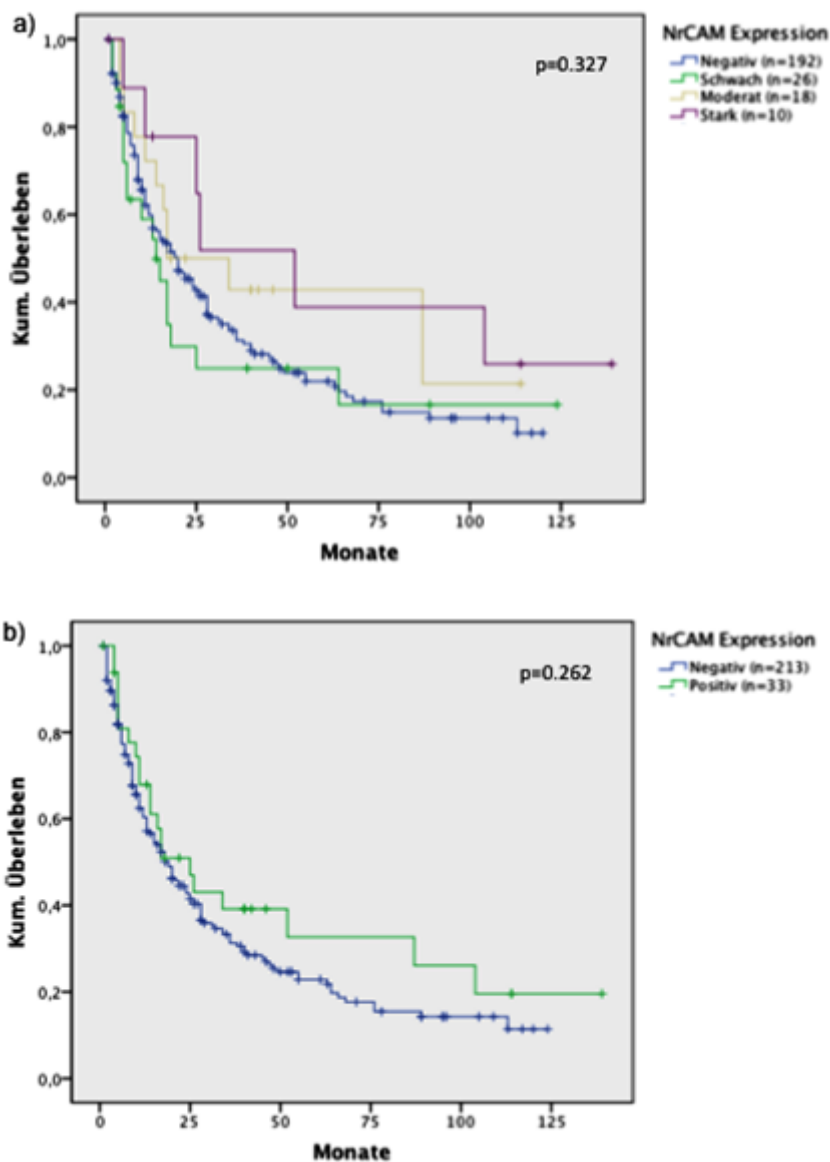


Abbildung 13: NrCAM-abhängiges Überleben im Ösophaguskarzinom
 Patientenüberleben in Abhängigkeit der NrCAM Expression unter Berücksichtigung aller Expressionsgrade (a) und nach Gruppierung in Negativ und Positiv (b).

Ein Effekt von NrCAM auf die rezidivfreie Zeit konnte ebenfalls nicht nachgewiesen werden ($p=0.902$). Zwischen Adeno- und Plattenepithelkarzinomen konnte bezüglich des Zusammenhangs zwischen NrCAM Expression und Überleben kein Unterschied festgestellt werden. Aus diesem Grund werden diese Daten nicht gesondert aufgeführt.

4 Diskussion

4.1 Auswahl von NrCAM zur Expressionsanalyse

In zwei vorangegangenen Dissertationen (Antje Krohn, Franziska Reininger) wurde ein Projekt zur Identifizierung und Validierung von amplifizierten Genen in Humanen Tumoren entwickelt. Unter anderem wurden Ösophagus-Karzinome mittels array-CGH auf DNA-Kopiezahländerungen untersucht. Dabei fand sich in einem Ösophaguskarzinom ein Amplikon auf Chromosom 7q21.1-31.1 mit einer Größe von 107392518 bis 109503373 bp (2,110,855kbp). Innerhalb dieses Amplikons fanden sich wiederum 8 Gene (NRCAM, LAMB1, LAMB4, DNAJB9, PNPLA8, THAP5, NP_001019778.1, O95036_HUMAN). Das NRCAM Gen wurde für die weitere Untersuchung ausgewählt, weil es in zahlreichen Studien mit Tumorwachstum in Verbindung gebracht worden ist.

Dazu zählen unter anderem Pankreas-Karzinome (Dhodapkar, Friedlander et al. 2001), kleinzellige Bronchialkarzinome (Taniwaki, Daigo et al. 2006), Rhabdomyosarkome (Lae, Ahn et al. 2007), Ependymome (Lukashova-v Zangen, Kneitz et al. 2007), Schilddrüsenkarzinome (Gorka, Skubis-Zegadlo et al. 2007), Glioblastome und Astrozytome (Sehgal, Boynton et al. 1998; Sehgal, Ricks et al. 1999). In einer Studie am Ependymom z.B. wurde die Überexpression des NrCAM mit einer schlechteren Prognose und erhöhten Tumorproliferationsrate assoziiert (Lukashova-v Zangen, Kneitz et al. 2007). Diese Daten lassen die Hypothese zu, dass durch die 7q31 Amplifikation eine Überexpression von NrCAM verursacht wird, die dann zu einem onkogenen Phänotyp führt. In der vorangegangenen Dissertation von Franziska Reininger wurde eine Amplifikation von NRCAM in 5-10% unterschiedlicher humaner Tumortypen gezeigt. Besonders fiel dabei eine Amplifikationsrate von ca. 13% in Ösophaguskarzinomen auf, so dass dieser Tumortyp für die vorliegende Studie zur Evaluation der Expression ausgewählt wurde. Zusätzlich wurde das Pankreaskarzinom ausgewählt, da dieses aufgrund seiner schlechten Prognose für die Forschung von besonderer Bedeutung ist.

Es sollte in dieser Studie die Häufigkeit der Überexpression und etwaige Assoziationen zum Phänotyp und der Prognose aufgezeigt werden.

4.2 NrCAM Expression in humanen Tumoren

Im ersten Teil der Studie wurde nach oben angegebenen Methoden die NrCAM Expression auf einem Multitumor Array analysiert, um häufig betroffene Tumoren aufzuzeigen und die Expression zu untersuchen.

Der Vorteil dieser Studie liegt in der Verwendung des Multitumor Arrays, durch welchen zum ersten Mal Tumorentitäten in hoher Anzahl gemeinsam analysiert und so in einer Rangliste verglichen werden können.

Die Analyse anhand des Multitumor Arrays konnte eine NrCAM Expression in einer Vielzahl von Tumorentitäten nachweisen. Insgesamt zeigten 76% der Tumoren eine positive Reaktion gemäß der vordefinierten Kriterien (siehe 2.2.2), wobei sich eine deutliche Positivität erwartungsgemäß vornehmlich bei Tumoren neuronaler Herkunft zeigte. Überraschend ist das Ergebnis deshalb nicht, weil NrCAM ein neurales Adhäsionsmolekül ist und zumeist in neuronalen Geweben exprimiert wird (Keilhauer, Faissner et al. 1985; Daniloff, Levi et al. 1986; Grumet, Mauro et al. 1991; Baldwin, Fazeli et al. 1996).

Die Auswertung zeigte eine hohe Rate an Überexpression von mehr als 50% lediglich in Tumoren des ZNS bzw. Tumoren mit neuroendokriner Differenzierung oder neuroektodermaler Herkunft. Eine Überexpression in nahezu 100% fand sich in Ependymomen, Oligodendrogliomen, Neuroblastomen und Astrozytomen und spiegelt die Ergebnisse vorbestehender Literatur wieder (Sehgal, Boynton et al. 1998; Lukashova-v Zangen, Kneitz et al. 2007). Bekanntermaßen kann die Überexpression bei einigen Tumorarten wie z.B. den Rhabdomyosarkomen und Ependymomen zur Diagnostik von Subtypen hinzugezogen werden (Lae, Ahn et al. 2007; Lukashova-v Zangen, Kneitz et al. 2007).

Eine deutliche Überexpression, wenn auch in geringerem Ausmaß, fand sich bei Tumoren neuroektodermaler Herkunft bzw. neuroendokriner Differenzierung. Erwartungsgemäß gehörte dazu auch das kleinzellige Bronchialkarzinome mit einer Überexpression in 54%, bei welchem NrCAM als immunhistochemischer Marker bereits in der Diagnostik zur Differenzierung Verwendung findet und sich in der Expression deutlich vom Nichtkleinzelligen

Bronchialkarzinom unterscheidet (Taniwaki, Daigo et al. 2006). Letzteres zeigte in dieser Analyse eine vielfach geringere NrCAM Expression von nur 12,5%. Andere Karzinome der Lunge wie das Adeno- oder das Plattenepithelkarzinom weisen lediglich in unter 4% eine NrCAM Expression auf. Im Großzelligen Bronchialkarzinom ist NrCAM in 21% überexprimiert.

Auch das papilläre Schilddrüsenkarzinom wurde in der Literatur bereits mit NrCAM in Verbindung gebracht und zeigt unabhängig vom Tumorstadium in hohem Maß eine Amplifikation und Überexpression von NrCAM (Gorka, Skubis-Zegadlo et al. 2007). Auch die Ergebnisse des Multitumor Arrays bestätigten die Überexpression, welche in diesem Fall in 58% der papillären Schilddrüsenkarzinome nachweisbar war.

Weiterhin zeigten sich auch in 48,8% der follikulären und in 42,9% der medullären Schilddrüsenkarzinomen eine NrCAM Expression, worüber in der Literatur bisher nicht berichtet wurde und somit eine neue Erkenntnis in der Erforschung der Schilddrüsenkarzinome darstellt.

Vorbeschrieben hingegen ist die Expression von NrCAM in hyperplastischem Gewebe und Karzinomen des Pankreas, wo sie mit zunehmender maligner Differenzierung abnimmt (Dhodapkar, Friedlander et al. 2001). Im duktalem Adenokarzinom des Pankreas zeigte sich in dieser Analyse eine Expressionsrate von 9,4% und im Adenokarzinom der Papilla Vateri eine Expression von 14,3%. Frühe Läsionen und Hyperplasien waren auf dem hier verwendeten Array nicht abgebildet, so dass eine vergleichende Aussage zu den Ergebnissen von Dhodapkar et al. anhand dieses TMAs nicht getroffen werden kann.

Eine Assoziation von NrCAM zum Malignen Melanom ist in der Literatur vielfach diskutiert worden. So können beispielsweise Translokationen auf Genebene im Malignen Melanom eine Überexpression von NrCAM verursachen (Okamoto, Pirker et al. 2005). Auch scheint eine Aktivierung von NrCAM durch SKI-Proteine zu Tumorprogression im Malignen Melanom zu führen (Reed, Lin et al. 2005). NrCAM als Zielgen des β -Catenin Signalwegs und spielt so durch Beteiligung an Zelladhäsion, Zellwachstum und

Zellformation eine aktivierende Rolle in der Entwicklung des Malignen Melanoms (Larue and Delmas 2006). Immunhistochemische Expressionsanalysen lagen bisher nicht vor, so dass auch hier die Analyse des Multitumor Arrays neue Ergebnisse liefert. Es zeigte sich eine Überexpression von NrCAM in 14,8% der 27 ausgewerteten Malignen Melanome.

Das Ovarialkarzinom zeigte abhängig von seiner Differenzierung, unterschiedliche Level der NrCAM Expression. Der höchste Grad an Überexpression fand sich im serösen Ovarialkarzinom mit 35%. Deutlich weniger zeigten das muzinöse (14,6%) und das endometroide Ovarialkarzinom (4,8%). Dies entspricht einer kürzlich publizierten Genanalyse von 11 serösen Ovarialkarzinomen und 8 duktalem, peritoneal metastasierten Mammakarzinomen, bei der unter anderem NrCAM als Charakteristikum des Ovarialkarzinoms beschrieben wurde. So kann es bei peritonealen Metastasen zur Differenzierung des Primärtumors zwischen Mamma- und Ovarialkarzinom herangezogen werden (Davidson, Stavnes et al. 2011). Weitere Studien zum Zusammenhang zwischen NrCAM und dem Ovarialkarzinom sind nicht bekannt, insbesondere liegen bisher keine Expressionsanalysen vor.

Keine oder nur geringe Expression von NrCAM zeigten vornehmlich Plattenepithelkarzinome (z.B. Plattenepithelkarzinom der Lunge 3,5%, des Ösophagus 0%, Analkarzinome 0%) und Sarkome (Angio-, Chondro-, Dermatofibrosarkome, Desmoidtumoren, Leiomyome jeweils 0%).

Die zuvor dargelegte Vergleichbarkeit der in der Literatur vorbestehenden Datenlage mit den Ergebnissen dieser Expressionsstudie bestätigt die hier verwendete Methodik. Die Verwendung von Multitumor Arrays eignet sich in besonderem Maße, weil eine Vielzahl unterschiedlicher Tumore mit einer hohen Gewebeanzahl (hier fast 3500 Proben von 100 Tumorentitäten) gleichzeitig unter standardisierten Bedingungen beurteilt werden können. Die TMA Technologie gewährleistet einen hohen Grad an Standardisierung sowie Konsistenz und Reproduzierbarkeit der Ergebnisse (Hoos and Cordon-Cardo 2001; Dancau, Simon et al. 2010; Sauter 2010). Die immunhistochemischen Färbungen wurden für alle TMAs mit dem selben Antikörper nach gleichem Protokoll durchgeführt. Die Auswertung folgte ohne weitere Verzögerung, so

dass alle Färbungen vergleichbar und frei von äußeren Einflüssen, wie beispielsweise verblässernder Intensität sind.

Insbesondere konnten so Tumorentitäten mit einer deutlichen Überexpression aufgezeigt werden, welche in der Literatur nicht vorbeschrieben waren. Dazu zählen beispielsweise das Phäochromozytom (86,9%), das pleomorphe Adenom der Parotis (78,6%), Medulloblastome (75%) , Seminome (63,2%), sowie das Endometriumkarzinom (57,8%).

Weitere Entitäten mit bisher unbekannter Überexpression von NrCAM sind das chromophobe Nierenzellkarzinom (43,8%), das Prostatakarzinom (34,4%), das Teratom (25%) und das Ösophaguskarzinom, welches in der Analyse des Multitumor-Arrays in 8,9% der Fälle eine Überexpression von NrCAM zeigte. Dies ist insofern von Bedeutung, als dass bei allen der zuletzt genannten Tumoren die Überexpression von NrCAM noch nicht bekannt war, jedoch als Membranprotein ein mögliches Therapieziel für zahlreiche Tumorentitäten darstellen könnte.

In Tierversuchsmodellen und Zelllinien konnte durch selektive Hemmung von NrCAM bereits eine Reduktion des Zellwachstums, der Migration oder des Tumorprogresses gezeigt werden. So war durch Injektion von löslichem NrCAM in vivo und in vitro beispielsweise die Hemmung der Astrozytenproliferation möglich (Krushel, Tai et al. 1998) und könnte eine neue Option in der Therapie von Astrozytomen aufzeigen.

Als weiteres Therapieziel käme NrCAM auch für Glioblastome in Frage. Mithilfe von antisense hNrCAM konnte in einer humanen Glioblastomzelllinie die Reduktion der nativen NrCAM Expression und somit eine reduzierte Zellproliferation erreicht werden. Die subcutane Injektion von antisense hNrCAM in Mäuse hatte eine komplette Hemmung von Tumorwachstum und die Injektion in vorbestehende Tumore ein verlangsamtes Tumorwachstum zur Folge (Sehgal, Ricks et al. 1999).

Ähnliche Effekte zeigten sich auch in Melanomzellen, wo in der Mäuse-Zelllinie B16 die Suppression von NrCAM durch siRNA adhesive und tumoröse Aktivität hemmte (Conacci-Sorrell, Kaplan et al. 2005).

Als weiteres Beispiel eines Membranproteins in der Tumorthherapie dient C-CAM dienen, dessen Verlust im humanen Prostatakarzinom als früher Schritt der Karzinogenese diskutiert wird. Die Transfizierung von C-CAM cDNA in die humane Prostatakarzinomzelllinie PC3 erreichte eine Hemmung der Tumorformation in Mäusen (Kleinerman, Troncoso et al. 1995).

Die Bedeutung von NrCAM für das Ovarialzellkarzinom wurde bereits beschrieben. Eine weitere Studie zeigte an dem nah verwandten Zelladhäsionsprotein L1, welches beispielsweise beim Pankreaskarzinom mit einer schlechten Prognose assoziiert ist (Ben, Wang et al. 2010), ein weiteres mögliches Therapiemodell. In vitro und in vivo konnte der spezifisch gegen L1 gerichtete Antikörper chCE7 das Tumorzellwachstum von Ovarialkarzinomen hemmen. Diese Antikörper setzten in Kombination mit Genistein die Stimulationsempfindlichkeit L1-abhängiger Signalwege wie ERK-, SRC- und AKT-Kinase herab und zeigt so vielleicht neue Wege in der antikörperbasierten Therapie auf, welche in ähnlicher Form auch bei NrCAM Anwendung finden könnten (Novak-Hofer, Cohrs et al. 2008).

Beispiele für gegen Membranproteine gerichtete Therapien finden sich am Beispiel von HER2, EPCAM und EGFR. Trastuzumab [Herceptin®], ein monoklonaler Antikörper gegen die extrazelluläre Domäne von HER2. Er wird seit Jahren erfolgreich in der Therapie des HER2-positiven Mammakarzinoms eingesetzt, wo in duktalem Mammakarzinomen Amplifikationsraten von HER2 in 15 bis zu 30% der Fälle beschrieben sind (Ross and Fletcher 1999; Fischgrabe and Wulfing 2008; Rastelli and Crispino 2008). Auch bei anderen Tumorentitäten mit vermehrter HER2 Amplifikation wie z.B. Magen- oder Ösophaguskarzinome wird nach vielversprechenden klinischen Studien die Anwendung von Trastuzumab diskutiert (Safran, Dipetrillo et al. 2007; Bang, Van Cutsem et al. 2010; Gravalos, Gomez-Martin et al. 2011).

EPCAM, ein epitheliales Zelladhäsionsmolekül wird auf nahezu allen epithelialen Oberflächen (außer mesodermalen und neuralen) exprimiert und ist durch seine extrazelluläre Domäne maßgeblich an der Zell-Matrix-Adhäsion, Proliferation und Migration beteiligt (Munz, Kieu et al. 2004). Therapierelevant ist es durch seine Überexpression in vielen Adenokarzinomen, insbesondere in

Mammakarzinomen und Karzinomen des Gastrointestinaltraktes, wo es mit schlechter Prognose assoziiert ist (Gastl, Spizzo et al. 2000; Baeuerle and Gires 2007; Patriarca, Macchi et al. 2012). Der mit 2010 mit dem Galenus-von-Pergamon Preis ausgezeichnete Antikörper Catumaxomab (Removab®) hat drei Wirkfunktionen. Eine davon verursacht über die Bindung an EPCAM eine Antikörper-abhängige Zytotoxizität. Andere Wirkungen sind die T-Zell vermittelte Lyse und die Phagozytose über Aktivierung von FcyR-positiven Helferzellen (Patriarca, Macchi et al. 2012). Mit klarem klinischen Benefit konnte er intraperitoneal in der Therapie von malignem Aszites bei EPCAM-positiven Primärtumoren angewendet werden (Heiss, Murawa et al. 2010; Jager, Schoberth et al. 2011; Strohle, Lordick et al. 2011). Weitere Antikörper gegen EPCAM wurden in klinischen Studien zur intravesikalen, intraperitonealen und intrapleuralen Therapie von Blasen-, Prostata und metastasiertem Mammakarzinomen getestet (Sebastian, Kiewe et al. 2009; Kowalski, Entwistle et al. 2010; Marschner, Ruttinger et al. 2010; Schmidt, Scheulen et al. 2010).

Erlotinib [Tarceva®] ist ein Inhibitor des Wachstumsfaktorrezeptors EGFR und findet Anwendung in der Therapie von Tumoren mit EGFR-Amplifikationen / Überexpressionen. Das Nichtkleinzellige Bronchialkarzinom und dabei insbesondere der Never-Smoking-Cancer, ist mit einer erhöhten Amplifikationsrate von EGFR vergesellschaftet und entwickelte sich zu einem weiteren erfolgreichen Beispiel der gerichteten, individualisierten Antikörpertherapie. So konnte die Therapie mit EGFR-Inhibitoren einen relevanten Überlebensvorteil bieten. Nicht nur das Screening auf EGFR-Alterationen bei dieser Tumorentität, sondern auch die Therapie mit EGFR-Inhibitoren fanden den Weg in die klinische Praxis (Subramanian and Govindan 2007; Morinaga, Okamoto et al. 2008; Tanner, Pastis et al. 2011).

Auch bei colorektalen Karzinomen ist die EGFR- und KRAS-Mutationsanalyse von besonderer Relevanz. Eine EGFR-Expression ist in colorektalen Karzinomen in bis zu 70% nachweisbar und mit einer schlechteren Prognose verbunden (Mayer, Takimoto et al. 1993; Nicholson, Gee et al. 2001; Cunningham, Humblet et al. 2004). Als Membranprotein bietet es einen

Angriffspunkt zielgerichteter Therapie beispielsweise mit den gegen EGFR gerichteten Antikörpern Cetuximab und Panitumumab. In einer großen Metaanalyse mehrerer randomisiert kontrollierter Studien konnte ein klarer Überlebensvorteil durch die Therapie mit EGFR-Inhibitoren gezeigt werden, sofern keine KRAS-Mutation und somit eine Resistenz gegen genannte Hemmstoffe vorliegt (Vale, Tierney et al. 2011).

Durch die Kombination des Standardtherapeutikums mit dem EGFR-Inhibitor Erlotinib könnte auch in der Therapie des Pankreaskarzinoms ein Fortschritt erreicht werden. Dadurch wurde im Rahmen einer klinischen Studie ein im Vergleich zur Monotherapie mit Gemcitabine verlängertes Gesamtüberleben bei Pankreaskarzinomen gezeigt (24% vs. 19%, median verlängertes Überleben von zwei Wochen) (Moore, Goldstein et al. 2007).

Als Therapieziel steht NrCAM noch am Anfang seiner Entwicklung. Möglicherweise hat es sich bisher noch nicht im selben Maße durchgesetzt wie andere Membranproteine, weil es auch in zahlreichen Normalgeweben exprimiert wird und daher eine Antikörper-basierte Therapie unerwünschte Nebenwirkungen hervorrufen könnte. Am Beispiel von EGFR, EPCAM und HER2, welche ebenfalls in vielen Normalgeweben exprimiert werden, zeigt sich jedoch der erfolgreiche Einsatz Antikörper-basierter Therapien.

4.3 NRCAM Expression im Pankreas- und Ösophaguskarzinom

Die Frage der biologischen Relevanz der NrCAM Expression ist bisher noch unklar und wenig erforscht. Um die klinische Relevanz der NrCAM Expression zu prüfen, sollten für die vorliegende Studie zwei Tumorentitäten mit nachweisbarer Expression weiterführend analysiert werden. Die Wahl fiel aufgrund der Ergebnisse der vorangegangenen Dissertationen von Antje Krohn und Franziska Reiningger auf das Ösophagus-, sowie das Pankreaskarzinom (siehe 4.1).

In der Untersuchung des Pankreaskarzinom Arrays fand sich in 24,1% (61/253) eine NrCAM Expression. Gruppierete man die Ergebnisse mit einem Schnitt bei

10% 2+ in Negativ und Positiv, zeigten immerhin noch 19% (48/253) eine kräftige NrCAM Expression. Ähnlich wie in der Studie von Dhodapkar et al. zeigte sich bei Betrachtung des pT-Stadiums ein Trend zu mit der Tumorgroße abnehmender Expression ohne statistische Signifikanz. Auf die lymphogene und hämatogene Metastasierung, den Differenzierungsgrad oder das Überleben hatte NrCAM keinen Einfluss.

Über die Bedeutung von NrCAM im Pankreaskarzinom findet sich bei Durchsicht der Literatur lediglich die bereits zitierte Studie von Dhodapkar et al.. In der Untersuchung von 11 Primärtumoren des Pankreas, sowie 4 Pankreaskarzinom-Zelllinien zeigte sich eine mit zunehmend maligner Dedifferenzierung abnehmende Expression von NrCAM. Der Augenmerk dieser Studie lag auf der unterschiedlichen Verteilung von NrCAM Normalgewebe, Hyperplasien und fortgeschrittenen Karzinomen (Dhodapkar, Friedlander et al. 2001). Aufgrund der wenigen Tumorproben konnte keine Aussage zur Expressionshäufigkeit gemacht werden, auch wurde die Prognoserelevanz und Assoziation zum klinischen Stadium nicht untersucht.

Daher stellten die Ergebnisse dieser Dissertation im Bezug auf das Pankreaskarzinom bisher die ersten Daten zur Expressionshäufigkeit dar. Eine Prognoserelevanz oder Assoziation zum Tumorstadium war nicht ersichtlich, jedoch könnten sich solche Effekte bei der Analyse von größeren Tumorkollektiven zeigen.

Die Analyse des Ösophagus TMA konnte nach Gruppierung in Negativ und Positiv eine Expressionrate von 9,5% (27/283) für das Gesamtkollektiv der Ösophaguskarzinome aufzeigen. Wurden alle, also auch die schwach positiven Expressionsgrade berücksichtigt, zeigte sich die Expressionsrate deutlich höher mit 21,9% (62/283). Unter Berücksichtigung aller Expressionsgrade fand sich bei der Subgruppenanalyse eine Expressionsrate von 24,8% für Adenokarzinome (30/121) und von 19,9% für Plattenepithelkarzinome (31/156). Auch für die Subgruppen wurde die Berechnung nach Einteilung in Negativ und Positiv durchgeführt. So ergab sich für Adenokarzinome eine Expression in 9,1% (11/121) und für Plattenepithelkarzinome in 9,6% (15/156) der Fälle. In der Literaturrecherche konnten keine Daten zur

NrCAM Expression in Ösophaguskarzinomen gefunden werden, so dass hier lediglich der Vergleich zur Amplifikationsstudie von Franziska Reiningger gezogen werden kann. Dort wurde eine Amplifikationsrate von 10,3% für das Gesamtkollektiv, sowie ebenfalls ähnliche Amplifikationsraten für Adeno- und Plattenepithelkarzinome beschrieben, was die Ergebnisse der Expressionsanalyse bestätigt. Zudem kann aber angenommen werden, dass NrCAM keinen Einfluss auf die Entstehung des einen oder anderen histologischen Subtyps hat.

Für das Gesamtkollektiv konnte nach Gruppierung der Expressionsgrade sowie der pT-Stadien ein Trend zu mit der Tumorgroße abnehmender NrCAM Expression beobachtet werden. Bestätigt wurde das in der Subgruppenanalyse, wo sich beim Adenokarzinom auch ohne Gruppierung derselbe Effekt zeigte, ohne jedoch eine statistische Signifikanz zu erreichen. Signifikant war allerdings eine mit der lymphogenen Metastasierung abnehmende Expression ($p=0.014$).

Andere Assoziationen zum Phänotyp oder ein Einfluss auf das Gesamt- und rezidivfreie Überleben konnten weder für das Gesamtkollektiv noch für die beiden Subgruppen gezeigt werden. Auch dies wird durch die Ergebnisse der vorangegangenen Amplifikationsstudie bestätigt, wo sich ein Einfluss von NrCAM auf die Prognose oder den Phänotyp ebenfalls nicht nachweisen ließ.

In der Literatur ist eine NrCAM Expression im Normalgewebe der Speiseröhre nicht beschrieben, so dass die mit zunehmender Tumoreindringtiefe abnehmende NrCAM Expression zunächst erstaunt. Möglich ist aber, dass NrCAM im Rahmen des Tumorwachstums nicht verloren geht, sondern dass minder maligne Tumoren über NrCAM-abhängige Signalwege entstehen und in Folge die Expression hochreguliert wird. Währenddessen könnten sich aggressivere oder entdifferenziertere Tumoren über NrCAM-unabhängige Signalwege entwickeln. So ist es denkbar, dass NrCAM zwar zu einem Tumorwachstum führt, jedoch möglicherweise zu einem weniger aggressiven Subtyp als beispielsweise L1 (von Rahden, Stein et al. 2006; Rawnaq, Kleinhans et al. 2009).

Unterstützt wird diese Annahme durch die günstigere Prognose des ER-positiven Mammakarzinoms. Obwohl der Östrogenrezeptor im Normalgewebe seltener exprimiert ist (Ali and Coombes 2002), weist das Mammakarzinom in ca. 70% eine Expression des Östrogenrezeptors (ER) auf (Crandall, Busler et al. 1998; Harvey, Clark et al. 1999; Anderson, Chatterjee et al. 2002).

Aus der Untersuchung am Pankreas- und Ösophaguskarzinom können keine Hinweise für eine Prognoserelevanz von NrCAM gefunden werden. Zwar liegen zahlreiche Untersuchungen zur Funktion und möglicherweise auch therapeutischen Anwendung in Tier- und Zelllinienmodellen vor, zu seiner möglichen Bedeutung als Prognosefaktor sind Publikationen über NrCAM jedoch rar. Eine Assoziation zu schlechter Prognose und einem aggressiveren Subtyp ist für Ependymome beschrieben (Lukashova-v Zangen, Kneitz et al. 2007). Bei Glioblastomen wurde im Tierversuch zwar eine Reduktion des Tumorwachstums und Blockierung von NrCAM beobachtet, eine statistisch signifikante Prognoserelevanz von NrCAM berichteten die Autoren der Studie aber nicht (Sehgal, Ricks et al. 1999). Auch für das Kleinzellige Bronchialkarzinom, wo NrCAM sich als diagnostischer Marker etabliert hat, liegen keine Analysen zur Prognoserelevanz vor (Taniwaki, Daigo et al. 2006).

Durch die Aktivierung über den β -Catenin Signalweg und SKI-Proteine ist NrCAM indirekt an der Entwicklung und Proliferation von Malignen Melanomen beteiligt. Für beide Aktivierungswege wurde eine relevante Förderung der Tumorprogression beschrieben, jedoch ist dabei die Überexpression von NrCAM selbst der entscheidende Faktor (Chen, Xu et al. 2003; Reed, Lin et al. 2005; Larue and Delmas 2006).

In der Gesamtschau liegen also Untersuchungen an humanem Gewebe zur Prognoserelevanz von NrCAM nur für Ependymome vor. NrCAM könnte möglicherweise für viele Tumorarten ein Therapieziel darstellen, auch wenn in dieser Studie eine Prognoserelevanz nicht aufgezeigt werden konnte.

5 Zusammenfassung

Zusammenfassend zeigt diese Studie die Effektivität der TMA-Technologie in der translationalen Forschung. Durch Analyse des Multitumor-Arrays und nachfolgenden Untersuchungen an tumorspezifischen Arrays konnte eine Vielzahl an Gewebeproben in kurzer Zeit erfolgreich untersucht und neue Erkenntnisse zur NrCAM Expression in verschiedenen Tumorentitäten gewonnen werden. Dazu zählt beispielsweise die noch nicht vorbeschriebene Expression in Phäochromozytomen, Medulloblastomen, Parotisadenomen oder Seminomen.

Beim Pankreaskarzinom fand sich eine Expression von NrCAM in 19% der Fälle, für das Ösophaguskarzinom traf dies in 9,5% zu. Eine biologische und prognostische Relevanz stellte sich am untersuchten Kollektiv für das Pankreas- und das Ösophaguskarzinom nicht dar.

Analysen mit größeren Fallzahlen könnten jedoch genauere Aussagen zur Relevanz von NrCAM in diesen Tumortypen treffen.

6 Literaturverzeichnis

- Acheson, A., J. L. Sunshine, et al. (1991). "NCAM polysialic acid can regulate both cell-cell and cell-substrate interactions." J Cell Biol **114**(1): 143-153.
- Ahmad, I., A. Iyer, et al. (2009). "Diagnostic use of cytokeratins, CD34, and neuronal cell adhesion molecule staining in focal nodular hyperplasia and hepatic adenoma." Hum Pathol **40**(5): 726-734.
- Aitkenhead, M., S. J. Wang, et al. (2002). "Identification of endothelial cell genes expressed in an in vitro model of angiogenesis: induction of ESM-1, (beta)ig-h3, and NrCAM." Microvasc Res **63**(2): 159-171.
- Akagi, I., M. Miyashita, et al. (2008). "SnoN overexpression is predictive of poor survival in patients with esophageal squamous cell carcinoma." Ann Surg Oncol **15**(10): 2965-2975.
- Akiyama, H., M. Tsurumaru, et al. (1994). "Radical lymph node dissection for cancer of the thoracic esophagus." Ann Surg **220**(3): 364-372; discussion 372-363.
- Al-Sarira, A. A., G. David, et al. (2007). "Oesophagectomy practice and outcomes in England." Br J Surg **94**(5): 585-591.
- Ali, S. and R. C. Coombes (2002). "Endocrine-responsive breast cancer and strategies for combating resistance." Nat Rev Cancer **2**(2): 101-112.
- Almoguera, C., D. Shibata, et al. (1988). "Most human carcinomas of the exocrine pancreas contain mutant c-K-ras genes." Cell **53**(4): 549-554.
- Altorki, N., M. Kent, et al. (2002). "Three-field lymph node dissection for squamous cell and adenocarcinoma of the esophagus." Ann Surg **236**(2): 177-183.
- Amin, N., E. Byrne, et al. (2011). "Genome-wide association analysis of coffee drinking suggests association with CYP1A1/CYP1A2 and NRCAM." Mol Psychiatry.
- Anderson, W. F., N. Chatterjee, et al. (2002). "Estrogen receptor breast cancer phenotypes in the Surveillance, Epidemiology, and End Results database." Breast Cancer Res Treat **76**(1): 27-36.
- Appelqvist, P. and M. Salmo (1980). "Lye corrosion carcinoma of the esophagus: a review of 63 cases." Cancer **45**(10): 2655-2658.
- Ashley-Koch, A., C. M. Wolpert, et al. (1999). "Genetic studies of autistic disorder and chromosome 7." Genomics **61**(3): 227-236.
- Atz, M. E., B. Rollins, et al. (2007). "NCAM1 association study of bipolar disorder and schizophrenia: polymorphisms and alternatively spliced isoforms lead to similarities and differences." Psychiatr Genet **17**(2): 55-67.
- AWMF (2010). "Leitlinie der Dt. Ges. f. Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten (DGVS) und der Dt. Krebsgesellschaft (DKG): Exokrines Pankreaskarzinom."
http://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/032-010_S3_Exokrines_Pankreaskarzinom_Leitlinie_10-2006_10-2011.pdf
22.11.2011.
- Bauerle, P. A. and O. Gires (2007). "EpCAM (CD326) finding its role in cancer." Br J Cancer **96**(3): 417-423.

- Baldwin, T. J., M. S. Fazeli, et al. (1996). "Elucidation of the molecular actions of NCAM and structurally related cell adhesion molecules." J Cell Biochem **61**(4): 502-513.
- Bang, Y. J., E. Van Cutsem, et al. (2010). "Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial." Lancet **376**(9742): 687-697.
- Bansal, P. and A. Sonnenberg (1995). "Pancreatitis is a risk factor for pancreatic cancer." Gastroenterology **109**(1): 247-251.
- Barthels, D., G. Vopper, et al. (1992). "High Degree of NCAM Diversity Generated by Alternative RNA Splicing in Brain and Muscle." Eur J Neurosci **4**(4): 327-337.
- Barton, C. M., P. A. Hall, et al. (1991). "Transforming growth factor alpha and epidermal growth factor in human pancreatic cancer." J Pathol **163**(2): 111-116.
- Bartsch, D. K., M. Sina-Frey, et al. (2002). "CDKN2A germline mutations in familial pancreatic cancer." Ann Surg **236**(6): 730-737.
- Ben, Q. W., J. C. Wang, et al. (2010). "Positive expression of L1-CAM is associated with perineural invasion and poor outcome in pancreatic ductal adenocarcinoma." Ann Surg Oncol **17**(8): 2213-2221.
- Benamouzig, R., E. Jullian, et al. (1995). "Absence of human papillomavirus DNA detected by polymerase chain reaction in French patients with esophageal carcinoma." Gastroenterology **109**(6): 1876-1881.
- Bergquist, H., A. Johnsson, et al. (2008). "Factors predicting survival in patients with advanced oesophageal cancer: a prospective multicentre evaluation." Aliment Pharmacol Ther **27**(5): 385-395.
- Berlin, J. D., P. Catalano, et al. (2002). "Phase III study of gemcitabine in combination with fluorouracil versus gemcitabine alone in patients with advanced pancreatic carcinoma: Eastern Cooperative Oncology Group Trial E2297." J Clin Oncol **20**(15): 3270-3275.
- Boschman, C. R., S. Stryker, et al. (1994). "Expression of p53 protein in precursor lesions and adenocarcinoma of human pancreas." Am J Pathol **145**(6): 1291-1295.
- Brown, L. M., S. S. Devesa, et al. (2008). "Incidence of adenocarcinoma of the esophagus among white Americans by sex, stage, and age." J Natl Cancer Inst **100**(16): 1184-1187.
- Brucher, B. L., H. J. Stein, et al. (2004). "Responders benefit from neoadjuvant radiochemotherapy in esophageal squamous cell carcinoma: results of a prospective phase-II trial." Eur J Surg Oncol **30**(9): 963-971.
- Burris, H. A., 3rd, M. J. Moore, et al. (1997). "Improvements in survival and clinical benefit with gemcitabine as first-line therapy for patients with advanced pancreas cancer: a randomized trial." J Clin Oncol **15**(6): 2403-2413.
- Campbell, S. L., R. Khosravi-Far, et al. (1998). "Increasing complexity of Ras signaling." Oncogene **17**(11 Reviews): 1395-1413.
- Chao, Y. K., S. C. Chan, et al. (2009). "Salvage surgery after failed chemoradiotherapy in squamous cell carcinoma of the esophagus." Eur J Surg Oncol **35**(3): 289-294.

- Chari, S. T., C. L. Leibson, et al. (2005). "Probability of pancreatic cancer following diabetes: a population-based study." Gastroenterology **129**(2): 504-511.
- Chen, B., H. Yin, et al. (1994). "Detection of human papillomavirus DNA in esophageal squamous cell carcinomas by the polymerase chain reaction using general consensus primers." Hum Pathol **25**(9): 920-923.
- Chen, D., W. Xu, et al. (2003). "SKI activates Wnt/beta-catenin signaling in human melanoma." Cancer Res **63**(20): 6626-6634.
- Compton, C. C. and D. E. Henson (1997). "Protocol for the examination of specimens removed from patients with carcinoma of the exocrine pancreas: a basis for checklists. Cancer Committee, College of American Pathologists." Arch Pathol Lab Med **121**(11): 1129-1136.
- Conacci-Sorrell, M., A. Kaplan, et al. (2005). "The shed ectodomain of Nr-CAM stimulates cell proliferation and motility, and confers cell transformation." Cancer Res **65**(24): 11605-11612.
- Conacci-Sorrell, M. E., T. Ben-Yedidia, et al. (2002). "Nr-CAM is a target gene of the beta-catenin/LEF-1 pathway in melanoma and colon cancer and its expression enhances motility and confers tumorigenesis." Genes Dev **16**(16): 2058-2072.
- Cook, M. B., D. C. Greenwood, et al. (2008). "A systematic review and meta-analysis of the risk of increasing adiposity on Barrett's esophagus." Am J Gastroenterol **103**(2): 292-300.
- Cook, M. B., C. P. Wild, et al. (2005). "A systematic review and meta-analysis of the sex ratio for Barrett's esophagus, erosive reflux disease, and nonerosive reflux disease." Am J Epidemiol **162**(11): 1050-1061.
- Crandall, D. L., D. E. Busler, et al. (1998). "Identification of estrogen receptor beta RNA in human breast and abdominal subcutaneous adipose tissue." Biochem Biophys Res Commun **248**(3): 523-526.
- Cremer, H., G. Chazal, et al. (1997). "NCAM is essential for axonal growth and fasciculation in the hippocampus." Mol Cell Neurosci **8**(5): 323-335.
- Cremer, H., R. Lange, et al. (1994). "Inactivation of the N-CAM gene in mice results in size reduction of the olfactory bulb and deficits in spatial learning." Nature **367**(6462): 455-459.
- Cunningham, D., I. Chau, et al. (2009). "Phase III randomized comparison of gemcitabine versus gemcitabine plus capecitabine in patients with advanced pancreatic cancer." J Clin Oncol **27**(33): 5513-5518.
- Cunningham, D., Y. Humblet, et al. (2004). "Cetuximab monotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer." N Engl J Med **351**(4): 337-345.
- D'Journo, X. B., P. Michelet, et al. (2008). "Indications and outcome of salvage surgery for oesophageal cancer." Eur J Cardiothorac Surg **33**(6): 1117-1123.
- Daly, J. M., W. A. Fry, et al. (2000). "Esophageal cancer: results of an American College of Surgeons Patient Care Evaluation Study." J Am Coll Surg **190**(5): 562-572; discussion 572-563.
- Dancau, A. M., R. Simon, et al. (2010). "Tissue microarrays." Methods Mol Biol **576**: 49-60.
- Daniloff, J. K., G. Levi, et al. (1986). "Altered expression of neuronal cell adhesion molecules induced by nerve injury and repair." J Cell Biol **103**(3): 929-945.

- David, O., L. Green, et al. (1998). "Pancreatic masses: a multi-institutional study of 364 fine-needle aspiration biopsies with histopathologic correlation." Diagn Cytopathol **19**(6): 423-427.
- Davidson, B., H. T. Stavnes, et al. (2011). "Gene expression signatures differentiate ovarian/peritoneal serous carcinoma from breast carcinoma in effusions." J Cell Mol Med **15**(3): 535-544.
- Defoe, S. G., A. Pennathur, et al. (2011). "Retrospective review of patients with locally advanced esophageal cancer treated at the university of pittsburgh." Am J Clin Oncol **34**(6): 587-592.
- Devesa, S. S., W. J. Blot, et al. (1998). "Changing patterns in the incidence of esophageal and gastric carcinoma in the United States." Cancer **83**(10): 2049-2053.
- Dhodapkar, K. M., D. Friedlander, et al. (2001). "Differential expression of the cell-adhesion molecule Nr-CAM in hyperplastic and neoplastic human pancreatic tissue." Hum Pathol **32**(4): 396-400.
- Dickson, G., H. J. Gower, et al. (1987). "Human muscle neural cell adhesion molecule (N-CAM): identification of a muscle-specific sequence in the extracellular domain." Cell **50**(7): 1119-1130.
- Eckhardt, M., M. Muhlenhoff, et al. (1995). "Molecular characterization of eukaryotic polysialyltransferase-1." Nature **373**(6516): 715-718.
- Edelman, G. M. (1985). "Cell adhesion and the molecular processes of morphogenesis." Annu Rev Biochem **54**: 135-169.
- Edelman, G. M. and K. L. Crossin (1991). "Cell adhesion molecules: implications for a molecular histology." Annu Rev Biochem **60**: 155-190.
- Edge SB, B. D., Compton CC, et al. (2010). Exocrine and endocrine pancreas. AJCC Cancer Staging Manual, NY: Springer: 241-249.
- El-Serag, H. (2008). "The association between obesity and GERD: a review of the epidemiological evidence." Dig Dis Sci **53**(9): 2307-2312.
- Falk, R. T., L. W. Pickle, et al. (1988). "Life-style risk factors for pancreatic cancer in Louisiana: a case-control study." Am J Epidemiol **128**(2): 324-336.
- Fernandez, E., C. La Vecchia, et al. (1996). "Attributable risks for pancreatic cancer in northern Italy." Cancer Epidemiol Biomarkers Prev **5**(1): 23-27.
- Fidalgo, P. O., M. L. Cravo, et al. (1995). "High prevalence of human papillomavirus in squamous cell carcinoma and matched normal esophageal mucosa: assessment by polymerase chain reaction." Cancer **76**(9): 1522-1528.
- Fields, R. C., V. E. Strong, et al. (2011). "Recurrence and survival after pathologic complete response to preoperative therapy followed by surgery for gastric or gastroesophageal adenocarcinoma." Br J Cancer **104**(12): 1840-1847.
- Fischgrabe, J. and P. Wulfing (2008). "Targeted therapies in breast cancer: established drugs and recent developments." Curr Clin Pharmacol **3**(2): 85-98.
- Fleming, J. B., G. L. Shen, et al. (2005). "Molecular consequences of silencing mutant K-ras in pancreatic cancer cells: justification for K-ras-directed therapy." Mol Cancer Res **3**(7): 413-423.
- Friedenson, B. (2005). "BRCA1 and BRCA2 pathways and the risk of cancers other than breast or ovarian." MedGenMed **7**(2): 60.

- Friess, H., Y. Yamanaka, et al. (1995). "Enhanced erbB-3 expression in human pancreatic cancer correlates with tumor progression." Clin Cancer Res **1**(11): 1413-1420.
- Frints, S. G., P. Marynen, et al. (2003). "CALL interrupted in a patient with non-specific mental retardation: gene dosage-dependent alteration of murine brain development and behavior." Hum Mol Genet **12**(13): 1463-1474.
- Furst, H., W. H. Hartl, et al. (2000). "Colon interposition for esophageal replacement: an alternative technique based on the use of the right colon." Ann Surg **231**(2): 173-178.
- Gamielien, W., T. C. Victor, et al. (1998). "p53 and p16/CDKN2 gene mutations in esophageal tumors from a high-incidence area in South Africa." Int J Cancer **78**(5): 544-549.
- Garcea, G., A. R. Dennison, et al. (2008). "Survival following curative resection for pancreatic ductal adenocarcinoma. A systematic review of the literature." JOP **9**(2): 99-132.
- Gastl, G., G. Spizzo, et al. (2000). "Ep-CAM overexpression in breast cancer as a predictor of survival." Lancet **356**(9246): 1981-1982.
- Gebski, V., B. Burmeister, et al. (2007). "Survival benefits from neoadjuvant chemoradiotherapy or chemotherapy in oesophageal carcinoma: a meta-analysis." Lancet Oncol **8**(3): 226-234.
- Gilmer-Hill, H. S., J. E. Boggan, et al. (1999). "Intrathecal morphine delivered via subcutaneous pump for intractable pain in pancreatic cancer." Surg Neurol **51**(1): 6-11.
- Glienke, J., A. O. Schmitt, et al. (2000). "Differential gene expression by endothelial cells in distinct angiogenic states." Eur J Biochem **267**(9): 2820-2830.
- Goldstein, A. M., M. C. Fraser, et al. (1995). "Increased risk of pancreatic cancer in melanoma-prone kindreds with p16INK4 mutations." N Engl J Med **333**(15): 970-974.
- Gorka, B., J. Skubis-Zegadlo, et al. (2007). "NrCAM, a neuronal system cell-adhesion molecule, is induced in papillary thyroid carcinomas." Br J Cancer **97**(4): 531-538.
- Gramlich, T. L., C. R. Fritsch, et al. (1994). "Differential polymerase chain reaction assay of cyclin D1 gene amplification in esophageal carcinoma." Diagn Mol Pathol **3**(4): 255-259.
- Gravalos, C., C. Gomez-Martin, et al. (2011). "Phase II study of trastuzumab and cisplatin as first-line therapy in patients with HER2-positive advanced gastric or gastroesophageal junction cancer." Clin Transl Oncol **13**(3): 179-184.
- Grumet, M., V. Mauro, et al. (1991). "Structure of a new nervous system glycoprotein, Nr-CAM, and its relationship to subgroups of neural cell adhesion molecules." J Cell Biol **113**(6): 1399-1412.
- Gu, J., J. A. Ajani, et al. (2010). "Genome-wide catalogue of chromosomal aberrations in barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma: a high-density single nucleotide polymorphism array analysis." Cancer Prev Res (Phila) **3**(9): 1176-1186.
- Gullo, L., R. Pezzilli, et al. (1994). "Diabetes and the risk of pancreatic cancer." N Engl J Med **331**(2): 81-84.
- Hainaut, P. and M. Hollstein (2000). "p53 and human cancer: the first ten thousand mutations." Adv Cancer Res **77**: 81-137.

- Hansen, S., J. N. Wiig, et al. (1997). "Esophageal and gastric carcinoma in Norway 1958-1992: incidence time trend variability according to morphological subtypes and organ subsites." Int J Cancer **71**(3): 340-344.
- Harewood, G. C. and M. J. Wiersema (2002). "Endosonography-guided fine needle aspiration biopsy in the evaluation of pancreatic masses." Am J Gastroenterol **97**(6): 1386-1391.
- Harvey, J. M., G. M. Clark, et al. (1999). "Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer." J Clin Oncol **17**(5): 1474-1481.
- Hearle, N., V. Schumacher, et al. (2006). "Frequency and spectrum of cancers in the Peutz-Jeghers syndrome." Clin Cancer Res **12**(10): 3209-3215.
- Heider, T. R., S. Lyman, et al. (2007). "Ski promotes tumor growth through abrogation of transforming growth factor-beta signaling in pancreatic cancer." Ann Surg **246**(1): 61-68.
- Heinemann, V., D. Quietzsch, et al. (2006). "Randomized phase III trial of gemcitabine plus cisplatin compared with gemcitabine alone in advanced pancreatic cancer." J Clin Oncol **24**(24): 3946-3952.
- Heiss, M. M., P. Murawa, et al. (2010). "The trifunctional antibody catumaxomab for the treatment of malignant ascites due to epithelial cancer: Results of a prospective randomized phase II/III trial." Int J Cancer **127**(9): 2209-2221.
- Herrmann, R., G. Bodoky, et al. (2007). "Gemcitabine plus capecitabine compared with gemcitabine alone in advanced pancreatic cancer: a randomized, multicenter, phase III trial of the Swiss Group for Clinical Cancer Research and the Central European Cooperative Oncology Group." J Clin Oncol **25**(16): 2212-2217.
- Hezel, A. F., A. C. Kimmelman, et al. (2006). "Genetics and biology of pancreatic ductal adenocarcinoma." Genes Dev **20**(10): 1218-1249.
- Hoffman, S. and G. M. Edelman (1987). "A proteoglycan with HNK-1 antigenic determinants is a neuron-associated ligand for cytotoxicity." Proc Natl Acad Sci U S A **84**(8): 2523-2527.
- Hollstein, M., D. Sidransky, et al. (1991). "p53 mutations in human cancers." Science **253**(5015): 49-53.
- Holscher, A. H., E. Bollschweiler, et al. (1995). "Prognosis of early esophageal cancer. Comparison between adeno- and squamous cell carcinoma." Cancer **76**(2): 178-186.
- Hoos, A. and C. Cordon-Cardo (2001). "Tissue microarray profiling of cancer specimens and cell lines: opportunities and limitations." Lab Invest **81**(10): 1331-1338.
- Howel-Evans, W., C. R. Mc, et al. (1958). "Carcinoma of the oesophagus with keratosis palmaris et plantaris (tylosis): a study of two families." Q J Med **27**(107): 413-429.
- Howes, N., M. M. Lerch, et al. (2004). "Clinical and genetic characteristics of hereditary pancreatitis in Europe." Clin Gastroenterol Hepatol **2**(3): 252-261.
- Hruban, R. H., A. Maitra, et al. (2008). "Update on pancreatic intraepithelial neoplasia." Int J Clin Exp Pathol **1**(4): 306-316.

- Hruban, R. H., K. Takaori, et al. (2004). "An illustrated consensus on the classification of pancreatic intraepithelial neoplasia and intraductal papillary mucinous neoplasms." Am J Surg Pathol **28**(8): 977-987.
- Hucz, J., M. Kowalska, et al. (2006). "[Gene expression of metalloproteinase 11, claudin 1 and selected adhesion related genes in papillary thyroid cancer]." Endokrynol Pol **57 Suppl A**: 18-25.
- Hutcheson, H. B., L. M. Olson, et al. (2004). "Examination of NRCAM, LRRN3, KIAA0716, and LAMB1 as autism candidate genes." BMC Med Genet **5**: 12.
- Ishiguro, H., J. P. Gong, et al. (2008). "Association of PTPRB gene polymorphism with drug addiction." Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet **147B**(7): 1167-1172.
- Ishiguro, H., Q. R. Liu, et al. (2006). "NrCAM in addiction vulnerability: positional cloning, drug-regulation, haplotype-specific expression, and altered drug reward in knockout mice." Neuropsychopharmacology **31**(3): 572-584.
- Jager, M., A. Schoberth, et al. (2011). "Immunomonitoring results of a Phase II/III study of malignant ascites patients treated with the trifunctional antibody catumaxomab (anti-EpCAM x anti-CD3)." Cancer Res.
- Jemal, A., T. Murray, et al. (2005). "Cancer statistics, 2005." CA Cancer J Clin **55**(1): 10-30.
- Ji, B. T., W. H. Chow, et al. (1995). "Dietary factors and the risk of pancreatic cancer: a case-control study in Shanghai China." Cancer Epidemiol Biomarkers Prev **4**(8): 885-893.
- Johnson, J. P. (1991). "Cell adhesion molecules of the immunoglobulin supergene family and their role in malignant transformation and progression to metastatic disease." Cancer Metastasis Rev **10**(1): 11-22.
- Keilhauer, G., A. Faissner, et al. (1985). "Differential inhibition of neurone-neurone, neurone-astrocyte and astrocyte-astrocyte adhesion by L1, L2 and N-CAM antibodies." Nature **316**(6030): 728-730.
- Kelsell, D. P., J. M. Risk, et al. (1996). "Close mapping of the focal non-epidermolytic palmoplantar keratoderma (PPK) locus associated with oesophageal cancer (TOC)." Hum Mol Genet **5**(6): 857-860.
- Kenwick, S., A. Watkins, et al. (2000). "Neural cell recognition molecule L1: relating biological complexity to human disease mutations." Hum Mol Genet **9**(6): 879-886.
- Klein, A. P., K. A. Brune, et al. (2004). "Prospective risk of pancreatic cancer in familial pancreatic cancer kindreds." Cancer Res **64**(7): 2634-2638.
- Kleinerman, D. I., P. Troncoso, et al. (1995). "Consistent expression of an epithelial cell adhesion molecule (C-CAM) during human prostate development and loss of expression in prostate cancer: implication as a tumor suppressor." Cancer Res **55**(6): 1215-1220.
- Klimstra, D. S. and D. S. Longnecker (1994). "K-ras mutations in pancreatic ductal proliferative lesions." Am J Pathol **145**(6): 1547-1550.
- Kogo, R., K. Mimori, et al. (2011). "FBXO31 determines poor prognosis in esophageal squamous cell carcinoma." Int J Oncol **39**(1): 155-159.
- Kollarova, H., L. Machova, et al. (2007). "Epidemiology of esophageal cancer--an overview article." Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub **151**(1): 17-20.
- Korc, M., B. Chandrasekar, et al. (1992). "Overexpression of the epidermal growth factor receptor in human pancreatic cancer is associated with

- concomitant increases in the levels of epidermal growth factor and transforming growth factor alpha." *J Clin Invest* **90**(4): 1352-1360.
- Kowalski, M., J. Entwistle, et al. (2010). "A Phase I study of an intravesically administered immunotoxin targeting EpCAM for the treatment of nonmuscle-invasive bladder cancer in BCGrefractory and BCG-intolerant patients." *Drug Des Devel Ther* **4**: 313-320.
- Krog, L., M. Olsen, et al. (1992). "Characterization of soluble neural cell adhesion molecule in rat brain, CSF, and plasma." *J Neurochem* **59**(3): 838-847.
- Krushel, L. A., M. H. Tai, et al. (1998). "Neural cell adhesion molecule (N-CAM) domains and intracellular signaling pathways involved in the inhibition of astrocyte proliferation." *Proc Natl Acad Sci U S A* **95**(5): 2592-2596.
- Kumaravel, A., R. Lopez, et al. (2010). "Brush cytology vs. endoscopic biopsy for the surveillance of Barrett's esophagus." *Endoscopy* **42**(10): 800-805.
- Kunz, P. L., A. Mojtahed, et al. (2011). "HER2 Expression in Gastric and Gastroesophageal Junction Adenocarcinoma in a US Population: Clinicopathologic Analysis With Proposed Approach to HER2 Assessment." *Appl Immunohistochem Mol Morphol*.
- Kuvshinoff, B. W. and M. P. Bryer (2000). "Treatment of resectable and locally advanced pancreatic cancer." *Cancer Control* **7**(5): 428-436.
- Lae, M., E. H. Ahn, et al. (2007). "Global gene expression profiling of PAX-FKHR fusion-positive alveolar and PAX-FKHR fusion-negative embryonal rhabdomyosarcomas." *J Pathol* **212**(2): 143-151.
- Lambert, R. and P. Hainaut (2007). "Esophageal cancer: cases and causes (part I)." *Endoscopy* **39**(6): 550-555.
- Lane, D. P. (1992). "Cancer. p53, guardian of the genome." *Nature* **358**(6381): 15-16.
- Larue, L. and V. Delmas (2006). "The WNT/Beta-catenin pathway in melanoma." *Front Biosci* **11**: 733-742.
- Leibl, B. J., S. Vitz, et al. (2011). "Adenocarcinoma of the esophagogastric junction: neoadjuvant radiochemotherapy and radical surgery : early results and toxicity." *Strahlenther Onkol* **187**(4): 231-237.
- Lemoine, N. R., S. Jain, et al. (1992). "Ki-ras oncogene activation in preinvasive pancreatic cancer." *Gastroenterology* **102**(1): 230-236.
- Levi, F., L. Randimbison, et al. (2001). "Epidemiology of adenocarcinoma and squamous cell carcinoma of the oesophagus." *Eur J Cancer Prev* **10**(1): 91-96.
- Li, F. P. and J. F. Fraumeni, Jr. (1969). "Soft-tissue sarcomas, breast cancer, and other neoplasms. A familial syndrome?" *Ann Intern Med* **71**(4): 747-752.
- Li, J., J. Kleeff, et al. (2004). "Gefitinib ('Iressa', ZD1839), a selective epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor, inhibits pancreatic cancer cell growth, invasion, and colony formation." *Int J Oncol* **25**(1): 203-210.
- Lillemoe, K. D., J. L. Cameron, et al. (1999). "Is prophylactic gastrojejunostomy indicated for unresectable periampullary cancer? A prospective randomized trial." *Ann Surg* **230**(3): 322-328; discussion 328-330.
- Louvet, C., R. Labianca, et al. (2005). "Gemcitabine in combination with oxaliplatin compared with gemcitabine alone in locally advanced or metastatic pancreatic cancer: results of a GERCOR and GISCAD phase III trial." *J Clin Oncol* **23**(15): 3509-3516.

- Lowenfels, A. B., P. Maisonneuve, et al. (1993). "Pancreatitis and the risk of pancreatic cancer. International Pancreatitis Study Group." N Engl J Med **328**(20): 1433-1437.
- Lowenfels, A. B., P. Maisonneuve, et al. (1994). "Prognosis of chronic pancreatitis: an international multicenter study. International Pancreatitis Study Group." Am J Gastroenterol **89**(9): 1467-1471.
- Lowenfels, A. B., P. Maisonneuve, et al. (1997). "Hereditary pancreatitis and the risk of pancreatic cancer. International Hereditary Pancreatitis Study Group." J Natl Cancer Inst **89**(6): 442-446.
- Lukashova-v Zangen, I., S. Kneitz, et al. (2007). "Ependymoma gene expression profiles associated with histological subtype, proliferation, and patient survival." Acta Neuropathol **113**(3): 325-337.
- Luttges, J., G. Zamboni, et al. (1999). "Recommendation for the examination of pancreaticoduodenectomy specimens removed from patients with carcinoma of the exocrine pancreas. A proposal for a standardized pathological staging of pancreaticoduodenectomy specimens including a checklist." Dig Surg **16**(4): 291-296.
- Lynch, H. T., R. E. Brand, et al. (2002). "Phenotypic variation in eight extended CDKN2A germline mutation familial atypical multiple mole melanoma-pancreatic carcinoma-prone families: the familial atypical mole melanoma-pancreatic carcinoma syndrome." Cancer **94**(1): 84-96.
- Lynch, H. T., T. C. Smyrk, et al. (1993). "Genetics, natural history, tumor spectrum, and pathology of hereditary nonpolyposis colorectal cancer: an updated review." Gastroenterology **104**(5): 1535-1549.
- Madhusudhan, C., S. S. Saluja, et al. (2009). "Palliative stenting for relief of dysphagia in patients with inoperable esophageal cancer: impact on quality of life." Dis Esophagus **22**(4): 331-336.
- Maesawa, C., G. Tamura, et al. (1994). "Aberrations of tumor-suppressor genes (p53, apc, mcc and Rb) in esophageal squamous-cell carcinoma." Int J Cancer **57**(1): 21-25.
- Maitra, A., N. V. Adsay, et al. (2003). "Multicomponent analysis of the pancreatic adenocarcinoma progression model using a pancreatic intraepithelial neoplasia tissue microarray." Mod Pathol **16**(9): 902-912.
- Maitra, A., N. Fukushima, et al. (2005). "Precursors to invasive pancreatic cancer." Adv Anat Pathol **12**(2): 81-91.
- Malumbres, M. and M. Barbacid (2003). "RAS oncogenes: the first 30 years." Nat Rev Cancer **3**(6): 459-465.
- Maness, P. F. and M. Schachner (2007). "Neural recognition molecules of the immunoglobulin superfamily: signaling transducers of axon guidance and neuronal migration." Nat Neurosci **10**(1): 19-26.
- Mann, O., T. Strate, et al. (2006). "Surgery for advanced and metastatic pancreatic cancer--current state and perspectives." Anticancer Res **26**(1B): 681-686.
- Marger, R. S. and D. Marger (1993). "Carcinoma of the esophagus and tylosis. A lethal genetic combination." Cancer **72**(1): 17-19.
- Marschner, N., D. Ruttinger, et al. (2010). "Phase II study of the human anti-epithelial cell adhesion molecule antibody adecatumumab in prostate cancer patients with increasing serum levels of prostate-specific antigen after radical prostatectomy." Urol Int **85**(4): 386-395.

- Marui, T., I. Funatogawa, et al. (2009). "Association of the neuronal cell adhesion molecule (NRCAM) gene variants with autism." Int J Neuropsychopharmacol **12**(1): 1-10.
- Marx, A. H., L. Tharun, et al. (2009). "HER-2 amplification is highly homogenous in gastric cancer." Hum Pathol **40**(6): 769-777.
- Mauro, V. P., L. A. Krushel, et al. (1992). "Homophilic and heterophilic binding activities of Nr-CAM, a nervous system cell adhesion molecule." J Cell Biol **119**(1): 191-202.
- Mayer, A., M. Takimoto, et al. (1993). "The prognostic significance of proliferating cell nuclear antigen, epidermal growth factor receptor, and mdr gene expression in colorectal cancer." Cancer **71**(8): 2454-2460.
- McWilliams, R. R., K. G. Rabe, et al. (2005). "Risk of malignancy in first-degree relatives of patients with pancreatic carcinoma." Cancer **104**(2): 388-394.
- Meijssen, M. A., H. W. Tilanus, et al. (1992). "Achalasia complicated by oesophageal squamous cell carcinoma: a prospective study in 195 patients." Gut **33**(2): 155-158.
- Meltzer, S. J., J. Yin, et al. (1991). "Reduction to homozygosity involving p53 in esophageal cancers demonstrated by the polymerase chain reaction." Proc Natl Acad Sci U S A **88**(11): 4976-4980.
- Mimura, K., K. Kono, et al. (2005). "Frequencies of HER-2/neu expression and gene amplification in patients with oesophageal squamous cell carcinoma." Br J Cancer **92**(7): 1253-1260.
- Miura, K., K. Suzuki, et al. (1996). "Detailed deletion mapping in squamous cell carcinomas of the esophagus narrows a region containing a putative tumor suppressor gene to about 200 kilobases on distal chromosome 9q." Cancer Res **56**(7): 1629-1634.
- Moehler, M., S. E. Al-Batran, et al. (2011). "[German S3-guideline "Diagnosis and treatment of esophagogastric cancer"]." Z Gastroenterol **49**(4): 461-531.
- Montesano, R., M. Hollstein, et al. (1996). "Genetic alterations in esophageal cancer and their relevance to etiology and pathogenesis: a review." Int J Cancer **69**(3): 225-235.
- Moore, M. J., D. Goldstein, et al. (2007). "Erlotinib plus gemcitabine compared with gemcitabine alone in patients with advanced pancreatic cancer: a phase III trial of the National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group." J Clin Oncol **25**(15): 1960-1966.
- Morales, G., M. Hubert, et al. (1993). "Induction of axonal growth by heterophilic interactions between the cell surface recognition proteins F11 and Nr-CAM/Bravo." Neuron **11**(6): 1113-1122.
- Mori, M., K. Mimori, et al. (2000). "Altered expression of Fhit in carcinoma and precarcinomatous lesions of the esophagus." Cancer Res **60**(5): 1177-1182.
- Morinaga, R., I. Okamoto, et al. (2008). "Association of epidermal growth factor receptor (EGFR) gene mutations with EGFR amplification in advanced non-small cell lung cancer." Cancer Sci **99**(12): 2455-2460.
- Morita, M., K. Araki, et al. (2003). "Risk factors for multicentric occurrence of carcinoma in the upper aerodigestive tract-analysis with a serial histologic evaluation of the whole resected-esophagus including carcinoma." J Surg Oncol **83**(4): 216-221.

- Morita, M., H. Saeki, et al. (2002). "Risk factors for esophageal cancer and the multiple occurrence of carcinoma in the upper aerodigestive tract." Surgery **131**(1 Suppl): S1-6.
- Moskaluk, C. A., R. H. Hruban, et al. (1997). "p16 and K-ras gene mutations in the intraductal precursors of human pancreatic adenocarcinoma." Cancer Res **57**(11): 2140-2143.
- Moss, A. C., E. Morris, et al. (2006). "Palliative biliary stents for obstructing pancreatic carcinoma." Cochrane Database Syst Rev(2): CD004200.
- Munoz, N., F. X. Bosch, et al. (2003). "Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer." N Engl J Med **348**(6): 518-527.
- Munz, M., C. Kieu, et al. (2004). "The carcinoma-associated antigen EpCAM upregulates c-myc and induces cell proliferation." Oncogene **23**(34): 5748-5758.
- Murphy, K. M., K. A. Brune, et al. (2002). "Evaluation of candidate genes MAP2K4, MADH4, ACVR1B, and BRCA2 in familial pancreatic cancer: deleterious BRCA2 mutations in 17%." Cancer Res **62**(13): 3789-3793.
- Nelson, R. W., P. A. Bates, et al. (1995). "Protein determinants for specific polysialylation of the neural cell adhesion molecule." J Biol Chem **270**(29): 17171-17179.
- Neoptolemos, J. P., D. D. Stocken, et al. (2004). "A randomized trial of chemoradiotherapy and chemotherapy after resection of pancreatic cancer." N Engl J Med **350**(12): 1200-1210.
- Neumaier, M., S. Paululat, et al. (1993). "Biliary glycoprotein, a potential human cell adhesion molecule, is down-regulated in colorectal carcinomas." Proc Natl Acad Sci U S A **90**(22): 10744-10748.
- Nicholson, R. I., J. M. Gee, et al. (2001). "EGFR and cancer prognosis." Eur J Cancer **37 Suppl 4**: S9-15.
- Nishiwaki, T., Y. Daigo, et al. (2000). "Isolation and mutational analysis of a novel human cDNA, DEC1 (deleted in esophageal cancer 1), derived from the tumor suppressor locus in 9q32." Genes Chromosomes Cancer **27**(2): 169-176.
- Nkondjock, A., D. Krewski, et al. (2005). "Dietary patterns and risk of pancreatic cancer." Int J Cancer **114**(5): 817-823.
- Novak-Hofer, I., S. Cohrs, et al. (2008). "Antibodies directed against L1-CAM synergize with Genistein in inhibiting growth and survival pathways in SKOV3ip human ovarian cancer cells." Cancer Lett **261**(2): 193-204.
- Oettle, H., S. Post, et al. (2007). "Adjuvant chemotherapy with gemcitabine vs observation in patients undergoing curative-intent resection of pancreatic cancer: a randomized controlled trial." JAMA **297**(3): 267-277.
- Oezcelik, A., G. M. Kaiser, et al. (2011). "Ten-year survival of esophageal cancer after an en-bloc esophagectomy." J Surg Oncol.
- Offerhaus, G. J., F. M. Giardiello, et al. (1992). "The risk of upper gastrointestinal cancer in familial adenomatous polyposis." Gastroenterology **102**(6): 1980-1982.
- Offner, F. A. (2000). "[Etiology, molecular biology and pathology of squamous cell carcinoma of the esophagus]." Pathologe **21**(5): 349-357.
- Okamoto, I., C. Pirker, et al. (2005). "Seven novel and stable translocations associated with oncogenic gene expression in malignant melanoma." Neoplasia **7**(4): 303-311.

- Olivier, M., R. Eeles, et al. (2002). "The IARC TP53 database: new online mutation analysis and recommendations to users." Hum Mutat **19**(6): 607-614.
- Olsen, M., L. Krog, et al. (1993). "Intact transmembrane isoforms of the neural cell adhesion molecule are released from the plasma membrane." Biochem J **295** (Pt 3): 833-840.
- Olsen, M., C. Zuber, et al. (1995). "The ability to re-express polysialylated NCAM in soleus muscle after denervation is reduced in aged rats compared to young adult rats." Int J Dev Neurosci **13**(2): 97-104.
- Patriarca, C., R. M. Macchi, et al. (2012). "Epithelial cell adhesion molecule expression (CD326) in cancer: A short review." Cancer Treat Rev **38**(1): 68-75.
- Peng, G., Q. Long, et al. (2011). "Evaluation of double vital staining with lugol's iodine and methylene blue in diagnosing superficial esophageal lesions." Scand J Gastroenterol **46**(4): 406-413.
- Pollerberg, E. G., R. Sadoul, et al. (1985). "Selective expression of the 180-kD component of the neural cell adhesion molecule N-CAM during development." J Cell Biol **101**(5 Pt 1): 1921-1929.
- Pollerberg, G. E., K. Burrige, et al. (1987). "The 180-kD component of the neural cell adhesion molecule N-CAM is involved in cell-cell contacts and cytoskeleton-membrane interactions." Cell Tissue Res **250**(1): 227-236.
- Pollerberg, G. E., M. Schachner, et al. (1986). "Differentiation state-dependent surface mobilities of two forms of the neural cell adhesion molecule." Nature **324**(6096): 462-465.
- Ranheim, T. S., G. M. Edelman, et al. (1996). "Homophilic adhesion mediated by the neural cell adhesion molecule involves multiple immunoglobulin domains." Proc Natl Acad Sci U S A **93**(9): 4071-4075.
- Rastelli, F. and S. Crispino (2008). "Factors predictive of response to hormone therapy in breast cancer." Tumori **94**(3): 370-383.
- Rawnaq, T., H. Kleinhans, et al. (2009). "Subset of esophageal adenocarcinoma expresses adhesion molecule I1 in contrast to squamous cell carcinoma." Anticancer Res **29**(4): 1195-1199.
- Reed, J. A., Q. Lin, et al. (2005). "SKI pathways inducing progression of human melanoma." Cancer Metastasis Rev **24**(2): 265-272.
- Reichelt, U., P. Duesedau, et al. (2007). "Frequent homogeneous HER-2 amplification in primary and metastatic adenocarcinoma of the esophagus." Mod Pathol **20**(1): 120-129.
- Reininger, F. (2009). Prävalenz und klinische Signifikanz von NRCAM Gen-Amplifikationen in humanen Ösophaguskarzinomen. Med. Dissertation. Universität Hamburg.
- RKI (2010). "Krebs in Deutschland 2005/2006 Häufigkeiten und Trends." http://edoc.rki.de/documents/rki_fv/re2vZ21t28lr8Y/PDF/22aJOdYnmXV0l.pdf 23.11.2011 7.
- Romero, Y., A. J. Cameron, et al. (2002). "Barrett's esophagus: prevalence in symptomatic relatives." Am J Gastroenterol **97**(5): 1127-1132.
- Ronkainen, J., N. J. Talley, et al. (2011). "Erosive Esophagitis Is a Risk Factor for Barrett's Esophagus: A Community-Based Endoscopic Follow-Up Study." Am J Gastroenterol.
- Ross, J. S. and J. A. Fletcher (1999). "HER-2/neu (c-erb-B2) gene and protein in breast cancer." Am J Clin Pathol **112**(1 Suppl 1): S53-67.

- Rousseau, M. C., M. E. Parent, et al. (2006). "Diabetes mellitus and cancer risk in a population-based case-control study among men from Montreal, Canada." Int J Cancer **118**(8): 2105-2109.
- Rozenblum, E., M. Schutte, et al. (1997). "Tumor-suppressive pathways in pancreatic carcinoma." Cancer Res **57**(9): 1731-1734.
- Rutishauser, U., A. Acheson, et al. (1988). "The neural cell adhesion molecule (NCAM) as a regulator of cell-cell interactions." Science **240**(4848): 53-57.
- Safran, H., T. Dipetrillo, et al. (2007). "Phase I/II study of trastuzumab, paclitaxel, cisplatin and radiation for locally advanced, HER2 overexpressing, esophageal adenocarcinoma." Int J Radiat Oncol Biol Phys **67**(2): 405-409.
- Sauter, G. (2010). "Representativity of TMA studies." Methods Mol Biol **664**: 27-35.
- Schmid, R. S. and P. F. Maness (2008). "L1 and NCAM adhesion molecules as signaling coreceptors in neuronal migration and process outgrowth." Current Opinion in Neurobiology **18**: 1-6.
- Schmidt, M., M. E. Scheulen, et al. (2010). "An open-label, randomized phase II study of adecatumumab, a fully human anti-EpCAM antibody, as monotherapy in patients with metastatic breast cancer." Ann Oncol **21**(2): 275-282.
- Schuchert, M. J. and J. D. Luketich (2007). "Barrett's esophagus-emerging concepts and controversies." J Surg Oncol **95**(3): 185-189.
- Sebastian, M., P. Kiewe, et al. (2009). "Treatment of malignant pleural effusion with the trifunctional antibody catumaxomab (Removab) (anti-EpCAM x Anti-CD3): results of a phase 1/2 study." J Immunother **32**(2): 195-202.
- Seewald, S., T. L. Ang, et al. (2008). "Detection and endoscopic therapy of early esophageal adenocarcinoma." Curr Opin Gastroenterol **24**(4): 521-529.
- Sehgal, A., A. L. Boynton, et al. (1998). "Cell adhesion molecule Nr-CAM is over-expressed in human brain tumors." Int J Cancer **76**(4): 451-458.
- Sehgal, A., S. Ricks, et al. (1999). "Antisense human neuroglia related cell adhesion molecule hNr-CAM, reduces the tumorigenic properties of human glioblastoma cells." Anticancer Res **19**(6B): 4947-4953.
- Seki, T. and U. Rutishauser (1998). "Removal of polysialic acid-neural cell adhesion molecule induces aberrant mossy fiber innervation and ectopic synaptogenesis in the hippocampus." J Neurosci **18**(10): 3757-3766.
- Shin, M. H., E. G. Lee, et al. (2002). "Neural cell adhesion molecule (NCAM) promotes the differentiation of hippocampal precursor cells to a neuronal lineage, especially to a glutamatergic neural cell type." Exp Mol Med **34**(6): 401-410.
- Shrikhande, S. V., J. Kleeff, et al. (2007). "Pancreatic resection for M1 pancreatic ductal adenocarcinoma." Ann Surg Oncol **14**(1): 118-127.
- Siewert, J. R., H. Bartels, et al. (1992). "[Squamous cell cancer of the esophagus. Treatment concept at the surgical clinic of the Munich Technical University]." Chirurg **63**(9): 693-700.
- Silber, W. (1985). "Carcinoma of the oesophagus: aspects of epidemiology and aetiology." Proc Nutr Soc **44**(1): 101-110.

- Slevin, M., J. Krupinski, et al. (2009). "Identification of pro-angiogenic markers in blood vessels from stroked-affected brain tissue using laser-capture microdissection." BMC Genomics **10**: 113.
- Soler, M., L. Chatenoud, et al. (1998). "Diet, alcohol, coffee and pancreatic cancer: final results from an Italian study." Eur J Cancer Prev **7**(6): 455-460.
- Spechler, S. J. (2002). "Clinical practice. Barrett's Esophagus." N Engl J Med **346**(11): 836-842.
- Speer, A. G., P. B. Cotton, et al. (1987). "Randomised trial of endoscopic versus percutaneous stent insertion in malignant obstructive jaundice." Lancet **2**(8550): 57-62.
- Staats, P. S., H. Hekmat, et al. (2001). "The effects of alcohol celiac plexus block, pain, and mood on longevity in patients with unresectable pancreatic cancer: a double-blind, randomized, placebo-controlled study." Pain Med **2**(1): 28-34.
- Stahl, M., M. K. Walz, et al. (2009). "Phase III comparison of preoperative chemotherapy compared with chemoradiotherapy in patients with locally advanced adenocarcinoma of the esophagogastric junction." J Clin Oncol **27**(6): 851-856.
- Stefaniak, T., A. Basinski, et al. (2005). "A comparison of two invasive techniques in the management of intractable pain due to inoperable pancreatic cancer: neurolytic celiac plexus block and videothoroscopic splanchnicectomy." Eur J Surg Oncol **31**(7): 768-773.
- Stemmermann, G., S. C. Heffelfinger, et al. (1994). "The molecular biology of esophageal and gastric cancer and their precursors: oncogenes, tumor suppressor genes, and growth factors." Hum Pathol **25**(10): 968-981.
- Stocken, D. D., M. W. Buchler, et al. (2005). "Meta-analysis of randomised adjuvant therapy trials for pancreatic cancer." Br J Cancer **92**(8): 1372-1381.
- Stoecklein, N. H., S. B. Hosch, et al. (2008). "Direct genetic analysis of single disseminated cancer cells for prediction of outcome and therapy selection in esophageal cancer." Cancer Cell **13**(5): 441-453.
- Strohlein, M. A., F. Lordick, et al. (2011). "Immunotherapy of peritoneal carcinomatosis with the antibody catumaxomab in colon, gastric, or pancreatic cancer: an open-label, multicenter, phase I/II trial." Onkologie **34**(3): 101-108.
- Subramanian, J. and R. Govindan (2007). "Lung cancer in never smokers: a review." J Clin Oncol **25**(5): 561-570.
- Sunpaweravong, P., S. Sunpaweravong, et al. (2005). "Epidermal growth factor receptor and cyclin D1 are independently amplified and overexpressed in esophageal squamous cell carcinoma." J Cancer Res Clin Oncol **131**(2): 111-119.
- Takeuchi, H., S. Ozawa, et al. (2001). "Further evidence that altered p16/CDKN2 gene expression is associated with lymph node metastasis in squamous cell carcinoma of the esophagus." Oncol Rep **8**(3): 627-632.
- Talamini, G., C. Bassi, et al. (1999). "Alcohol and smoking as risk factors in chronic pancreatitis and pancreatic cancer." Dig Dis Sci **44**(7): 1303-1311.

- Taniwaki, M., Y. Daigo, et al. (2006). "Gene expression profiles of small-cell lung cancers: molecular signatures of lung cancer." Int J Oncol **29**(3): 567-575.
- Tanner, M., M. Hollmen, et al. (2005). "Amplification of HER-2 in gastric carcinoma: association with Topoisomerase IIalpha gene amplification, intestinal type, poor prognosis and sensitivity to trastuzumab." Ann Oncol **16**(2): 273-278.
- Tanner, N. T., N. J. Pastis, et al. (2011). "The role of molecular analyses in the era of personalized therapy for advanced NSCLC." Lung Cancer.
- Tepper, J., M. J. Krasna, et al. (2008). "Phase III trial of trimodality therapy with cisplatin, fluorouracil, radiotherapy, and surgery compared with surgery alone for esophageal cancer: CALGB 9781." J Clin Oncol **26**(7): 1086-1092.
- Tessier-Lavigne, M. and C. S. Goodman (1996). "The molecular biology of axon guidance." Science **274**(5290): 1123-1133.
- Thiery, J. P., R. Brackenbury, et al. (1977). "Adhesion among neural cells of the chick embryo. II. Purification and characterization of a cell adhesion molecule from neural retina." J Biol Chem **252**(19): 6841-6845.
- Thomaidou, D., D. Coquillat, et al. (2001). "Soluble forms of NCAM and F3 neuronal cell adhesion molecules promote Schwann cell migration: identification of protein tyrosine phosphatases zeta/beta as the putative F3 receptors on Schwann cells." J Neurochem **78**(4): 767-778.
- Tomasiewicz, H., K. Ono, et al. (1993). "Genetic deletion of a neural cell adhesion molecule variant (N-CAM-180) produces distinct defects in the central nervous system." Neuron **11**(6): 1163-1174.
- Uedo, N., M. Fujishiro, et al. (2011). "Role of narrow band imaging for diagnosis of early-stage esophagogastric cancer: current consensus of experienced endoscopists in Asia-Pacific region." Dig Endosc **23 Suppl 1**: 58-71.
- UICC (2010). TNM Classification of Malignant Tumours <http://www.uicc.org/tnm> 03.10.2011.
- Vale, C. L., J. F. Tierney, et al. (2011). "Does anti-EGFR therapy improve outcome in advanced colorectal cancer? A systematic review and meta-analysis." Cancer Treat Rev.
- Van Cutsem, E., H. van de Velde, et al. (2004). "Phase III trial of gemcitabine plus tipifarnib compared with gemcitabine plus placebo in advanced pancreatic cancer." J Clin Oncol **22**(8): 1430-1438.
- Vawter, M. P. (2000). "Dysregulation of the neural cell adhesion molecule and neuropsychiatric disorders." Eur J Pharmacol **405**(1-3): 385-395.
- Vawter, M. P., W. J. Freed, et al. (2000). "Neuropathology of bipolar disorder." Biol Psychiatry **48**(6): 486-504.
- von Brevern, M., M. C. Hollstein, et al. (1998). "Loss of heterozygosity in sporadic oesophageal tumors in the tylosis oesophageal cancer (TOC) gene region of chromosome 17q." Oncogene **17**(16): 2101-2105.
- von Rahden, B. H., H. J. Stein, et al. (2006). "Overexpression of TGF-beta1 in esophageal (Barrett's) adenocarcinoma is associated with advanced stage of disease and poor prognosis." Mol Carcinog **45**(10): 786-794.
- Vousden, K. H. and X. Lu (2002). "Live or let die: the cell's response to p53." Nat Rev Cancer **2**(8): 594-604.

- Wang, B., H. Williams, et al. (1998). "Alternative splicing of human NrCAM in neural and nonneural tissues." Mol Cell Neurosci **10**(5-6): 287-295.
- Werner, M., J. Mueller, et al. (1999). "The molecular pathology of Barrett's esophagus." Histol Histopathol **14**(2): 553-559.
- Whelan, A. J., D. Bartsch, et al. (1995). "Brief report: a familial syndrome of pancreatic cancer and melanoma with a mutation in the CDKN2 tumor-suppressor gene." N Engl J Med **333**(15): 975-977.
- White, R., C. Winston, et al. (2008). "Current utility of staging laparoscopy for pancreatic and peripancreatic neoplasms." J Am Coll Surg **206**(3): 445-450.
- WHO (2010). Classification of Tumours of the Digestive System
<http://www.uicc.org/tnm> 03.10.2011.
- Wilson, M., E. L. Rosato, et al. (2008). "Prognostic significance of lymph node metastases and ratio in esophageal cancer." J Surg Res **146**(1): 11-15.
- Wittekind, C. and A. Tannapfel (2010). "[The current TNM system for gastrointestinal tumors part I]." Pathologe **31**(5): 344-347.
- Wu, X., V. W. Chen, et al. (2006). "Incidence of esophageal and gastric carcinomas among American Asians/Pacific Islanders, whites, and blacks: subsite and histology differences." Cancer **106**(3): 683-692.
- Yang, J., H. Luo, et al. (2011). "Intratumoral Heterogeneity Determines Discordant Results of Diagnostic Tests for Human Epidermal Growth Factor Receptor (HER) 2 in Gastric Cancer Specimens." Cell Biochem Biophys.
- Yang, P. C. and S. Davis (1988). "Incidence of cancer of the esophagus in the US by histologic type." Cancer **61**(3): 612-617.
- Ye, W., J. Lagergren, et al. (2002). "Alcohol abuse and the risk of pancreatic cancer." Gut **51**(2): 236-239.
- Yeo, C. J., J. L. Cameron, et al. (1995). "Pancreaticoduodenectomy for cancer of the head of the pancreas. 201 patients." Ann Surg **221**(6): 721-731; discussion 731-723.
- Yip, D., C. Karapetis, et al. (2006). "Chemotherapy and radiotherapy for inoperable advanced pancreatic cancer." Cochrane Database Syst Rev **3**: CD002093.
- Yu, Y., P. R. Taylor, et al. (1993). "Retrospective cohort study of risk-factors for esophageal cancer in Linxian, People's Republic of China." Cancer Causes Control **4**(3): 195-202.
- Zhan, N., W. G. Dong, et al. (2011). "Analysis of HER2 gene amplification and protein expression in esophageal squamous cell carcinoma." Med Oncol.

7 Danksagung

Meinem Doktorvater Professor Sauter gilt mein Dank für die Begleitung dieser wissenschaftlichen Arbeit. Ebenso danke ich PD Dr. Simon für seine andauernde Ermutigung und Hilfestellung. Karin Breitmeier und den medizinisch-technischen Assistentinnen, allen voran Christina Koop, danke ich für ihre Engelsgeduld und technische Unterstützung.

„Zwei Dinge sollten Kinder von ihren Eltern bekommen: Wurzeln und Flügel.“

J.W. von Goethe

Ich danke meinen Eltern, die mir Beides mit so viel Liebe gegeben haben.

8 Lebenslauf

PERSONALIEN

Anschrift: Ana-Maria Dancau
Geburtsdatum: 07. Dezember 1981
Geburtsort: Temeschburg, Rumänien

BERUFSERFAHRUNG / FACHARZTWEITERBILDUNG

Seit 01/2011 Klinik für Chirurgie des Krankenhauses Reinbek St. Adolf Stift,
Chefarzt Prof. Dr. med. T. Strate

01/2009-12/2010 Klinik für Allgemein-, Viszeral-, und Thoraxchirurgie,
Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf,
Chefarzt Prof. Dr. med. Prof. h.c. J. R. Izbicki

04/2010-10/2010 Rotation in der Klinik für Intensivmedizin,
Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf,
Chefarzt PD Dr. med. S. Kluge

10/2009-3/2010 Außenrotation in der Klinik für Allgemein-, Gefäß-, und
Viszeralchirurgie, Klinikum Itzehoe, Chefarzt Prof. Dr. med. M.
Neipp

01/2008-12/2008 Institut für Pathologie, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf,
Institutsdirektor Prof. Dr. med. G. Sauter

WISSENSCHAFTLICHE TÄTIGKEIT / PUBLIKATIONEN

Patterns of CCND1 and PPFIA1 co-amplification in breast cancer. Dancau A, Wuth L, Waschow M, Holst F, Krohn A, Kurtz S., Pospisil H., Lebeau A, Sauter G and Simon R. Institute of Pathology, University Medical Centre Hamburg Eppendorf, Hamburg, Germany -*Genes Chromosomes Cancer*. 2010 Jan; **49**(1):1-8

Tissue microarrays. Dancau AM, Simon R, Mirlacher M, Sauter G. *Methods Mol Biol.* 2010;576:49-60. *Anmerkung: Buchartikel Cancer Gene Profiling, Methods in Molecular Biology*

Effective therapeutic targeting of the overexpressed HER-2 receptor in a highly metastatic orthotopic model of esophageal carcinoma. Gros SJ, Kurschat N, Dohrmann T, Reichelt U, Dancau AM, Peldschus K, Adam G, Hoffman RM, Izbicki JR, Kaifi JT. *Mol Cancer Ther.* 2010 Jul; **9**(7):2037-45.

Homogeneous EGFR amplification defines a subset of aggressive Barrett's adenocarcinomas with poor prognosis. Marx AH, Zielinski M, Kowitz CM, Dancau AM, Thielges S, Simon R, Choschzick M, Yekebas E, Kaifi JT, Mirlacher M, Atanackovic D, Brümmendorf TH, Fiedler W, Bokemeyer C, Izbicki JR, Sauter G. *Histopathology*. 2010 Sep;57(3):418-26. doi: 10.1111/j.1365-2559.2010.03643.x. Epub 2010 Aug 31.

HER-2 amplification is highly homogenous in gastric cancer. Marx AH, Tharun L, Muth J, Dancau AM, Simon R, Yekebas E, Kaifi JT, Mirlacher M, Brümmendorf TH, Bokemeyer C, Izbicki JR, Sauter G. *Hum Pathol*. 2009 Jun; 40(6):769-77.

Reply to "ESR1 gene amplification in breast cancer: a common phenomenon?" Holst F, Stahl P, Hellwinkel O, Dancau AM, Krohn A, Wuth L, Heupel C, Lebeau A, Terracciano L, Al-Kuraya K, Jänicke F, Sauter G, Simon R. *Nature Genetics* 40, 810 - 812 (2008)

Mitarbeit an der vom Bundesministerium für Gesundheit in Auftrag gegebenen
Expertise:

„Auswirkungen von Cannabiskonsum und -missbrauch: Eine Expertise zu gesund-heitlichen und psychosozialen Folgen. Ein Systematisches Review der international publizierten Studien von 1996–2005“ unter der Projektleitung von Prof. Dr. med. R. Thomasius, Klinik für Psychiatrie, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf; veröffentlicht im Dezember 2006

STUDIUM / SCHULISCHE LAUFBAHN

November 2007	Ärztliche Prüfung und Erlangung der Approbation nach ÄappO
2006-2007	Ausbildung im Rahmen des Praktischen Jahres (PJ): <ul style="list-style-type: none">• Abteilung für Innere Medizin, Krankenhaus Alten Eichen• Department of Cardiac Surgery, Trauma and General Surgery, St. Michael's Hospital, University of Toronto, Canada• Klinik f. Allgemein-, Viszeral-, Thorax-Chirurgie, Uniklinikum Hamburg-Eppendorf• Klinik für Kinder- und Jugendmedizin, Klinik für Kinderkardiologie, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
2000-2007	Studium der Medizin, Universität Hamburg
2004-2005	Medizinische Universität Wien
März 2003	Ärztliche Vorprüfung gemäß ÄappO (Physikum)
1997-2000	Ludwig-Meyn-Gymnasium, Uetersen Abitur in 12 Jahren mit den Schwerpunktfächern Biologie, Deutsch, Geschichte, Französisch
1996-1997	Katholisches Gymnasium Sophie-Barat-Schule, Hamburg
1992-1996	Gymnasium Bornbrook, Hamburg
1988-1992	Grundschule Richard-Linde-Weg, Hamburg

9 Erklärung

Eidesstattliche Versicherung:

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Unterschrift: _____